

**KAJIAN LITERATUR: MIKROENKAPSULASI RECOMBINANT  
PROTEIN MIKROALGA *Chlorella vulgaris* UNTUK TREATMENT IKAN  
KERAPU CANTANG (*Epinephelus fuscoguttatus-lanceolatus*) YANG  
TERINFEKSI VIRAL NERVOUS NECROSIS**

**SKRIPSI**

Oleh:

**DILA MUNA FIRDAUS  
NIM. 175080101111005**



**PROGRAM STUDI MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN  
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2021**

**KAJIAN LITERATUR: MIKROENKAPSULASI *RECOMBINANT*  
PROTEIN MIKROALGA *Chlorella vulgaris* UNTUK *TREATMENT* IKAN  
KERAPU CANTANG (*Epinephelus fuscoguttatus-lanceolatus*) YANG  
TERINFEKSI VIRAL NERVOUS NECROSIS**

**SKRIPSI**

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan  
di Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan  
Universitas Brawijaya**

Oleh:

**DILA MUNA FIRDAUS  
NIM. 175080101111005**



**PROGRAM STUDI MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN  
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG**

**2021**



**SKRIPSI**

**Kajian Literatur: Mikroenkapsulasi *Recombinant Protein* Mikroalga *Chlorella vulgaris* untuk *Treatment* Ikan Kerapu Cantang (*Epinephelus Fuscoguttatus-Lanceolatus*) yang Terinfeksi *Viral Nervous Necrosis***

Oleh:

**DILA MUNA FIRDAUS  
NIM. 175080101111005**

**Telah dipertahankan didepan Pembimbing  
pada tanggal 16 Juli 2021  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat**

**Mengetahui:**  
**Ketua Jurusan Manajemen Sumber daya Dosen Pembimbing**  
**Perairan**

**Menyetujui,**



**Dr. Ir. M. Firdaus,MP**  
**NIP. 19680919 200501 1 001**

**Tanggal: 7/22/2021**

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Uun Yanuhar'.

**Dr. Uun Yanuhar, S.Pi., M.Si**  
**NIP. 19730404 200212 2 001**

**Tanggal: 7/22/2021**

**PERNYATAAN ORISINALITAS**

Dengan ini Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Dila Muna Firdaus

NIM : 175080101111005

Judul Skripsi : Kajian Literatur: Mikroenkapsulasi *Recombinant Protein*

Mikroalga *Chlorella vulgaris* untuk Treatment Ikan Kerapu

Cantang (*Epinephelus fuscoguttatus-Lanceolatus*) yang

Terinfeksi *Viral Nervous Necrosis*

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa penulisan kajian literatur sebagai pengganti skripsi ini berdasarkan hasil kajian, analisis, pemikiran dan pemaparan asli dari saya sendiri yang berasal dari telaah berbagai sumber pustaka. Sedangkan baik untuk naskah, tabel, gambar maupun ilustrasi lainnya yang tercantum sebagai bagian dari skripsi ini yang berasal dari sumber pustaka atau karya / pendapat / penelitian dari orang lain, maka saya telah mencantumkan sumber yang jelas dalam daftar pustaka. Kajian literatur ini juga bagian dari Payung Riset yang didanai oleh DPRM Deputy Bidang Penguatan Riset dan Inovasi Nasional dengan Penelitian Terapan Unggulan Perguruan Tinggi (PTUPT) sesuai dengan kontrak Penelitian Nomor: 197/SP2H/LT/DPRM/2021, tanggal 18 Maret 2021

Demikian pernyataan ini saya buat apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik sesuai dengan peraturan yang berlaku di Universitas Brawijaya, Malang. Demikian pernyataan ini saya buat dalam keadaan sadar dan dapat dipertanggungjawabkan.

Malang, 16 Juli 2021



Dila Muna Firdaus

NIM.175080101111005



## IDENTITAS TIM PENGUJI

**Judul :** KAJIAN LITERATUR: MIKROENKAPSULASI  
RECOMBINANT PROTEIN MIKROALGA *Chlorella*  
*vulgaris* UNTUK TREATMENT IKAN KERAPU  
CANTANG (*Epinephelus fuscoguttatus-Lanceolatus*)  
YANG TERINFEKSI VIRAL NERVOUS NECROSIS

Nama Mahasiswa : Dila Muna Firdaus  
NIM : 175080101111005  
Program Studi : Manajemen Sumber daya Perairan

### PENGUJI PEMBIMBING :

Pembimbing : Dr. Uun Yanuhar, S.Pi., M.Si

### PENGUJI PEMBIMBING :

Dosen Penguji 1 : Dr. Asus Maizar Suryanto Hertika, S. Pi. MP  
Dosen Penguji 2 : Evellin Dwi Lusiana, S. Si. M. Si

Tanggal Ujian : 16 Juli 2021



## UCAPAN TERIMA KASIH

### Disampaikan Kepada:

Payung Research Penelitian Terapan Unggulan Perguruan Tinggi (PTUPT)

### Yang Dibiayai Oleh:

Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat  
Deputi Bidang Penguatan Riset dan Pengembangan  
Kementrian Riset dan Teknologi/ Badan Riset dan Inovasi  
Nasional Sesuai dengan kontrak penelitian  
Nomor : 197/SP2H/LT/DRPM/2021, tanggal 18/03/2021

### Dengan Judul :

“Kajian Literatur: Mikroenkapsulasi *Recombinant Protein* Mikroalga *Chlorella vulgaris* untuk Treatment Ikan Kerapu Cantang (*Epinephelus fuscoguttatus-Lanceolatus*) yang Terinfeksi *Viral Nervous Necrosis*”

Sebagai Ketua Peneliti Dr. Uun Yanuhar, S.Pi., M.Si

Anggota Tim Penelitian Sebagai Berikut:

- |                                     |                                 |
|-------------------------------------|---------------------------------|
| 1. Prof. Dr. Ir. Diana Arfiati, MS. | 11. Jihan Salsabila             |
| 2. Dr. Ir. Muhammad Musa, MS.       | 12. Dila Muna Firdaus           |
| 3. Nico Caesar Rahman, S.Pi., MP.   | 13. Delima Ayu Faradilla        |
| 4. Nur Sakinah Junirahma, S.Pi.     | 14. Suwantoro                   |
| 5. Saddam Langkung Djaduk, S.Pi.    | 15. Muchamad Zam-zami           |
| 6. Choirul Huda, S.Pi.              | 16. Dela Novalinda Santika      |
| 7. Agi Pandiya                      | 17. Hoki Agustinus Ong Wijaya   |
| 8. Muhammad Alfian                  | 18. Achmad Firu Yuda Putra      |
| 9. Nimas Alificynthiea              | 19. Tasya Billa Miftahul Jannah |
| 10. Ihda Zulvia Nur Mawaddah        | 20. Raudatul Ibdiah             |

Ketua Peneliti

Dr. Uun Yanuhar, S.Pi., M.Si  
NIP. 19730404 200212 2 001



## UCAPAN TERIMA KASIH

Selama menyelesaikan penyusunan skripsi ini penulis telah banyak menerima bantuan dan dukungan dari banyak pihak. Tidak lupa saya sebagai penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada:

1. Allah SWT yang telah memberikan berkat, rahmat, kesehatan, kelancaran, dan kemudahan dalam prosesnya menyelesaikan skripsi ini, serta Nabi Muhammad SAW yang telah menjadi panutan dan teladan untuk menjaga kesabaran serta tidak menyerah dalam mengerjakan skripsi ini.
2. Kedua orang tua (Bapak Suwandi dan Ibu Yuli Handayani) serta kakak (Mohammad Akbar Hadi) yang selalu memberikan kasih sayang, doa, motivasi yang tak terhingga.
3. Dr. Uun Yanuhar, S.Pi., M.Si selaku Ketua Program Studi Manajemen Sumber Daya Perairan yang telah membantu dan mendukung penyusunan skripsi ini.
4. Dr. Uun Yanuhar, S.Pi, M.Si selaku dosen pembimbing dan Prof. Dr. Heru Suryanto, S.T., MT. yang telah memberikan bimbingan, petunjuk dan pengarahan yang baik dalam penyusunan skripsi ini.
5. Dr. Asus Maizar S. Hertika, S.Pi., MP dan Evellin Dewi Lusiana, S.Si., M.Si selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran yang membangun.
6. Mas Nico Rahman Caesar, Mbak Nur Sakinah Junirahma, Mas Choirul Huda, Ahmad firu dan segenap Tim Proyek Bu Uun Yanuhar 2021 yang telah membantu baik dukungan nonmateriil maupun materiil selama skripsi.
7. Teman-teman seperbimbingan (Jihan, Nimas, Delima, Ihda, Agi, Alfian, Toro, dan Zami) yang selalu kebersamai dan membantu segala keperluan selama penulisan skripsi ini.

8. Teman-teman MAN Genteng terkhusus Ahmad Dwi Kurniawan, Feni Tri Saadati, Aldi Ainun Habibi, dan teman-teman penulis lainnya yang telah banyak membantu dan mendukung penulis selama skripsi berlangsung.

9. Teman-teman ERIDANUS (MSP 2017) yang selalu memberi dukungan dan informasi selama kuliah hingga dalam pelaksanaan skripsi ini.

10. Kakak tingkat, Adik Tingkat, teman-teman Mahasiswa Universitas Brawijaya yang selalu memberikan semangat dalam memberikan energi positif.

11. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu membantu penulis selama proses persiapan skripsi hingga penyusunan laporan ini.

Akhir kata, penulis sampaikan terima kasih kepada semua pihak yang telah berperan serta dalam penyusunan laporan ini dari awal sampai akhir.





## RINGKASAN

**Dila Muna Firdaus.** Kajian Literatur: Mikroenkapsulasi *Recombinant Protein* Mikroalga *Chlorella vulgaris* untuk *Treatment* Ikan Kerapu Cantang (*Epinephelus fuscoguttatus-lanceolatus*) yang Terinfeksi *Viral Nervous Necrosis* (Dr. Uun Yanuhar, S.Pi., M.Si)

---

Salah satu ikan kerapu yang memiliki nilai ekonomis tinggi dan banyak dibudidayakan yaitu ikan kerapu cantang. Ikan kerapu Cantang (*Epinephelus fuscoguttatus* x *Epinephelus lanceolatus*) merupakan ikan hasil persilangan antara ikan kerapu macan betina dengan ikan kerapu kertang jantan. Maka dari itu tidak salah jika ikan kerapu banyak diminati pembudidaya. Kesehatan ikan dapat berasal dari penyakit bawaan atau dari luar yaitu lingkungan hidupnya. Penyakit yang dapat menyerang ikan yaitu dari bakteri dan virus sehingga perlu diperhatikan bahkan ketika stadia larva atau benih. *Viral Nervous Necrosis* (VNN) disebabkan oleh adanya tekanan dari lingkungan yaitu kualitas air yang buruk sehingga ikan menjadi stress dan mudah terserang penyakit. Penyakit oleh VNN ini merupakan persoalan yang penting karena dapat mengakibatkan kematian hingga 100% pada ukuran ikan 2-5 cm. Virus ini menyerang sistem syaraf yaitu pada mata dan otak lalu gejala yang muncul yaitu ikan berenang dengan tidak normal dan berdiam di dasar. Pengendalian virus yang lain yaitu dengan vaksin rekombinan dimana dalam penanganannya tidak memerlukan biaya yang mahal. Pengendalian yang mudah dipantau, ketika manipulasi sintesis protein dapat ditingkatkan, dan keamanan yang cukup baik. Selain itu, kelebihan vaksin protein rekombinan yaitu lebih stabil dan bebas dari materi-materi yang dapat menghambat atau menginfeksi spesies. Pemilihan *Chlorella* untuk vaksin rekombinan menjadi pilihan tepat karena *Chlorella* memiliki sumber nutrisi yang baik dan memiliki biomassa untuk dijadikan sebagai suplemen protein. Protein pada *Chlorella vulgaris* dapat berfungsi juga untuk memperbaiki sel-sel yang rusak, pembentuk membran sel, dan sumber energi bagi ikan. Tujuan dari kajian literatur ini yaitu untuk menjelaskan mikroenkapsulasi *recombinant protein* mikroalga *Chlorella vulgaris* dengan *adjuvant* CFA (*Complete Freund's Adjuvant*)/IFA (*Incomplete Freund's Adjuvant*) dan Kitosan untuk Ikan Kerapu Cantang (*Epinephelus fuscoguttatus-lanceolatus*) yang terinfeksi *Viral Nervous Necrosis*.

Metode pada kajian literatur ini yaitu *Systematic Literature Review* merupakan metodologi penelitian atau riset tertentu dan pengembangan yang dilakukan untuk mengumpulkan serta mengevaluasi penelitian yang terkait pada fokus topik tertentu. Tujuan SLR untuk mengidentifikasi, mengkaji, mengevaluasi, dan menafsirkan semua penelitian yang tersedia dengan bidang topik fenomena yang menarik, dengan pertanyaan penelitian tertentu yang relevan.

Kajian literatur ini akan memberikan penjelasan bagaimana *Adjuvant Complete Freund's Adjuvant* (CFA)/*Incomplete Freund's Adjuvant* (IFA) dan Kitosan memengaruhi Ikan Kerapu Cantang (*Epinephelus fuscoguttatus-lanceolatus*) yang terinfeksi VNN dengan pemberian protein rekombinan *Chlorella vulgaris*. Penggunaan *adjuvant* digunakan untuk meningkatkan respon imun pada ikan kerapu cantang (*Epinephelus fuscoguttatus* x *Epinephelus lanceolatus*). Kajian literatur ini akan membandingkan penggunaan setiap *adjuvant* pada ikan kerapu cantang (*Epinephelus fuscoguttatus* x *Epinephelus lanceolatus*) yang terinfeksi VNN dengan pemberian *Chlorella vulgaris*.



## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat taufik serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi yang berjudul “Kajian Literatur: Mikroenkapsulasi *Recombinant Protein* Mikroalga *Chlorella vulgaris* untuk *Treatment* Ikan Kerapu Cantang (*Epinephelus fuscoguttatus-lanceolatus*) yang Terinfeksi *Viral Nervous Necrosis*”

Penulis telah mengupayakan semaksimal mungkin untuk menyelesaikan laporan ini dengan baik. Apabila pada laporan ini masih terdapat banyak kesalahan, hal itu dikarenakan keterbatasan pengetahuan dan kemampuan penulis. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun demi kesempurnaan dalam mengerjakan laporan pada masa yang akan datang. Penulis berharap semoga laporan ini dapat bermanfaat bagi penulis sendiri maupun bagi pembaca pada umumnya.

Malang, 16 Juli 2021



Penulis



## DAFTAR ISI

<b>PERNYATAAN ORISINALITAS</b>	<b>i</b>
<b>IDENTITAS TIM PENGUJI</b>	<b>ii</b>
<b>UCAPAN TERIMA KASIH</b>	<b>iii</b>
<b>RINGKASAN</b>	<b>vi</b>
<b>KATA PENGANTAR</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR ISI</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b>	<b>xii</b>
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Kajian Literatur	4
1.3 Kegunaan Kajian Literatur	4
<b>BAB 2 METODE REVIEW</b>	<b>5</b>
2.1 Konsep Dasar Kajian Literatur	5
2.2 Tahapan Pembuatan Kajian Literatur	6
2.2.1 Tahapan Topik Kajian Literatur	7
2.2.2 Pencarian Sumber Pustaka	8
2.2.3 Pemilihan Sumber Pustaka	9
2.2.4 Analisis Sumber Pustaka	10
2.2.5 Penyusunan Sumber Pustaka	10
<b>BAB 3 HASIL REVIEW</b>	<b>10</b>
3.1 Kondisi Biologis Ikan Kerapu Cantang ( <i>Epinephelus fuscoguttatus-lanceolatus</i> )	13
3.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Kerapu Cantang	13
3.1.2 Habitat Ikan Kerapu Cantang	15
3.1.3 Kebiasaan Makan Ikan Kerapu Cantang	16
3.1.4 Sistem Pertahanan Tubuh Ikan Kerapu Cantang	18
3.1.5 Parameter Kualitas Air	19
3.1.6 Gejala Klinis Ikan kerapu Cantang	31
3.2 Penyebaran dan Penanganan Virus <i>Viral Nervous Necrosis</i>	22
3.2.1 Klasifikasi dan Morfologi	22
3.2.2 Habitat dan Distribusi	23
3.2.3 Mekanisme Infeksi VNN	27
3.2.4 Penanggulangan Virus <i>Viral Nervous Necrosis</i>	23
3.3 Aplikasi <i>Chlorella vulgaris</i> sebagai Imunostimulan	31
3.3.1 Klasifikasi dan Morfologi	33

3.3.2 Habitat .....	34
3.3.3 Siklus Hidup .....	35
3.3.4 Kandungan <i>Chlorella vulgaris</i> .....	36
3.3.5 Pemanfaatan Protein Rekombinan <i>Chlorella vulgaris</i> .....	46
3.4 Penanggulangan Ikan Kerapu Cantang ( <i>Epinephelus fuscoguttatus-lanceolatus</i> ) yang terinfeksi <i>Viral Nervous Necrosis</i> (VNN) .....	47
3.5 Adjuvant .....	47
3.5.1 CFA (Complete Freund's Adjuvant) .....	48
3.5.2 IFA (Freund's Incomplete Adjuvant) .....	49
3.5.3 Kitosan .....	50
3.6 Penggunaan Adjuvant sebagai Bahan Pembantu Dalam Mikroenkapsulasi terhadap Respon Imun Ikan Kerapu Cantang ( <i>E. fuscoguttatus-lanceolatus</i> ) yang terinfeksi <i>Viral Nervous Necrosis</i> (VNN) .....	56
<b>BAB 4 PENUTUP .....</b>	<b>59</b>
4.1 Kesimpulan .....	59
4.2 Saran .....	59
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>60</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>75</b>





## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kata kunci dan database yang digunakan dalam pencarian pustaka .....	9
2. Virus DNA dan RNA pada Ikan .....	25
3. Susunan Bahan Amplifikasi .....	30
4. Kondisi Amplifikasi nested RT-PCR .....	31
5. Perbandingan Profil Asam Amino <i>Chlorella vulgaris</i> .....	37
6. Pigmen <i>Chlorella vulgaris</i> .....	38
7. Perbandingan Uji Fitokimia Bahan Aktif <i>Chlorella vulgaris</i> .....	43
8. Perbandingan Adjuvant CFA, IFA, dan Kitosan .....	51
9. Perbandingan respon imun terhadap adjuvant CFA/IFA dan Kitosan .....	58



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tahapan Pembuatan Kajian Literatur.....	7
2. Ikan Kerapu Cantang (Sutarmat, 2016) .....	14
3. Model Tiga Dimensi Protein Kapsid VNN pada Ikan Kerapu Totos Oranye (Lin <i>et al.</i> , 2016) .....	22
4. <i>Chlorella vulgaris</i> (Sumber: Arguelles <i>et al.</i> , 2019) .....	33
5. Autosporeulasi <i>Chlorella vulgaris</i> (Ibrahim <i>et al.</i> , 2020) .....	36
6. (A) Struktur dari $\beta$ -karoten dan (B) Struktur dari Astaxanthin, kedua senyawa aktif ini memiliki fungsi meningkatkan kelangsungan hidup ikan (Chang and Xiong, 2020) .....	39
7. (A) Struktur dari Lutein memiliki sifat antioksidan dan (B) Struktur dari Cantaxanthin sebagai vitamin dan meningkatkan kesehatan ikan (Dhankar <i>et al.</i> , 2012) .....	40
8. (A) Struktur dari Klorofil-a, (B) Struktur dari Klorofil-a, (C) Struktur dari Feofitin-a, (D) Struktur dari Feofitin-b (Hsu <i>et al.</i> , 2013) .....	41
9. Hasil Penggunaan <i>Adjuvant</i> Modifikasi Kitosan (PLGA) (Kuo <i>et al.</i> , 2016).....	57
10. Tingkat Ekspresi Gen Tipe 1 IFN dan MX (Valero <i>et al.</i> , 2016) .....	57





DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran

Halaman

Lampiran 1. *Outline* pada Laporan Kajian Literatur ..... 75



## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Budidaya ikan kerapu memang kian meningkat dikarenakan minat konsumen yang cukup tinggi terhadap ikan karang dari famili Serranidae ini terutama konsumen dari luar negeri. Tujuan ekspor biasanya dilakukan ke negara Malaysia, Hongkong, Taiwan, dan Singapura (Prayogo dan Hidayat, 2014).

Berdasarkan informasi ekspor ikan kerapu budidaya oleh Kabupaten Kepulauan Anambas selama tahun 2020 yaitu aktivitas ekspor dilakukan sebanyak 5 kali dengan total 61,8 ton (KKP, 2020). Ikan kerapu yang termasuk mempunyai nilai ekonomis dan mudah dibudidayakan yaitu ikan kerapu cantang. Ikan kerapu Cantang (*Epinephelus fuscoguttatus* x *Epinephelus lanceolatus*) merupakan hasil persilangan dari ikan kerapu macan betina dan ikan kerapu kertang jantan. Maka dari itu tidak salah jika ikan kerapu banyak diminati pembudidaya (Suhaili *et al.*, 2020)

Tantangan yang harus dihadapi oleh pembudidaya dalam keberhasilan budidaya selain persoalan operasional dan biaya pemeliharaan tentunya berkaitan dengan pertumbuhan dan kesehatan ikan. Kesehatan ikan dapat berasal dari penyakit bawaan atau dari luar yaitu lingkungan hidupnya. Penyakit yang dapat menyerang ikan yaitu dari bakteri dan virus sehingga perlu diperhatikan bahkan ketika stadia larva atau benih. Salah satu virus yang sering menginfeksi dan menyebabkan kerugian besar hingga kematian massal yaitu *Viral Nervous Necrosis* (VNN) atau *Virus Encephalopathy and Retinopathy* (VER). VNN disebabkan oleh adanya tekanan dari lingkungan yaitu kualitas air yang buruk sehingga ikan menjadi stress dan mudah terserang penyakit (Junirahma dan Yanuhar, 2020). Penyakit oleh VNN ini merupakan persoalan yang penting karena



dapat mengakibatkan kematian hingga 100% pada ukuran ikan 2-5 cm. Virus ini menyerang sistem syaraf yaitu pada mata dan otak lalu gejala yang muncul yaitu ikan berenang dengan tidak normal dan berdiam di dasar (Sudaryatma dan Lestari, 2014). Masa penularan virus melalui lingkungan perairan yang dapat menginfeksi ikan dalam jangka 4 hari kontak dengan tanda-tanda klinis. Bahkan tanpa gejala klinis ikan dapat terinfeksi yaitu melalui induknya (Lestari dan Sudaryatma, 2014).

Upaya yang dapat mengurangi risiko yaitu dengan melemahkan betanodavirus dengan formalin yang dapat memberikan hasil cukup baik. Namun proses dalam menonaktifkan virus terlalu mahal dan membutuhkan pemantauan yang ekstensif, sama halnya dengan penggunaan imunisasi *polyinosinic-polycytidylic acid* (Poly (I: C)) yang mahal dan memerlukan izin administrasi. Kemudian terdapat vaksin dengan mentransfer DNA ke sel somatik untuk tujuan memengaruhi sistem kekebalan tetapi keberhasilannya kurang dan terbatas pada beberapa jenis ikan. Pengendalian virus yang lain yaitu dengan vaksin rekombinan dimana dalam penanganannya tidak memerlukan biaya yang mahal. Pengendalian yang mudah dipantau ketika manipulasi sintesis protein dapat ditingkatkan, hingga keamanan yang baik menjadikan pengendalian dengan vaksin rekombinan menjadi pilihan meskipun keefektifannya bergantung pada dosis (Hazreen-nita *et al.*, 2019). Selain itu, kelebihan vaksin protein rekombinan yaitu lebih stabil dan bebas dari materi-materi yang dapat menghambat atau menginfeksi spesies (Soyi, 2016).

Dalam menanggulangi VNN, protein rekombinan dapat ditemukan pada bahan alami yaitu senyawa bioaktif mikroalga *Chlorella vulgaris*. Mikroalga kelas Chlorophyceae ini mempunyai nilai gizi tinggi dan terdapat senyawa bioaktif alami. Senyawa tersebut adalah karotenoid, sulfat polisakarida, senyawa fenol, dan vitamin yang dapat berfungsi untuk pengendalian sel, imunitas spesies dan



Mikroenkapsulasi protein memerlukan bahan penyalut dalam proses pembuatannya. Selain bahan penyalut protein yang dimanfaatkan sebagai vaksin biasanya ditambahkan bahan pembantu atau *adjuvant*. *Adjuvant* dimaksudkan untuk meningkatkan imunogenisitas antigen dan dengan demikian mengurangi jumlah dan jumlah dosis antigen yang akan diberikan. Beberapa *adjuvant* membantu dalam retensi antigen dalam sistem *host* dan dengan demikian membantu dalam meningkatkan pilihan rute untuk pengiriman antigen. Beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam pemilihan *adjuvant* adalah bioavailabilitas, tidak ada sitotoksitas, biodegradabilitas, produksi murah, dan respon yang tepat terhadap penyakit. *Adjuvant* yang umum digunakan pada pengantar obat atau vaksin yaitu *Complete Freund's Adjuvant* (CFA), *Incomplete Freund's Adjuvant*



(IFA) dan Kitosan. Dari *adjuvant* tersebut belum diketahui mana yang paling tepat dan efisien pada Ikan Kerapu Cantang (*Epinephelus fuscoguttatus-lanceolatus*) yang terinfeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN). Maka dari itu perlu adanya kajian literatur lebih lanjut terkait penanganan Ikan Kerapu Cantang (*Epinephelus fuscoguttatus-lanceolatus*) yang terinfeksi VNN. Kajian literatur ini akan memberikan penjelasan bagaimana *Adjuvant Complete Freund's Adjuvant* (CFA), *Incomplete Freund's Adjuvant* (IFA) dan Kitosan memengaruhi Ikan Kerapu Cantang (*Epinephelus fuscoguttatus-lanceolatus*) yang terinfeksi VNN dengan pemberian protein rekombinan *Chlorella vulgaris*.

## 1.2 Tujuan Kajian Literatur

1. Untuk menjelaskan mikroenkapsulasi *recombinant protein* mikroalga *Chlorella vulgaris* dengan *adjuvant* CFA (*Complete Freund's Adjuvant*), IFA (*Incomplete Freund's Adjuvant*) dan Kitosan untuk Ikan Kerapu Cantang (*Epinephelus fuscoguttatus-lanceolatus*) yang terinfeksi *Viral Nervous Necrosis*

## 1.3 Kegunaan Kajian Literatur

Kajian literatur ini dapat dimanfaatkan sebagai bahan rujukan dan dapat digunakan sebagai solusi untuk menanggulangi permasalahan ikan kerapu khususnya ikan kerapu cantang (*Epinephelus fuscoguttatus-lanceolatus*) saat terinfeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN). Kajian Literatur ini dapat juga digunakan dalam pengetahuan penanggulangan *Viral Nervous Necrosis* (VNN) melalui protein rekombinan atau vaksin yang dienkapsulasi dengan *adjuvant* berbeda.

## BAB 2 METODE REVIEW

### 2.1 Konsep Dasar Kajian Literatur

Menurut Cahyono *et al.*, (2019), *Literatur review* adalah pembahasan ilmiah yang memberikan deskripsi mengenai perkembangan topik tertentu.

Pelaksanaannya dapat dilakukan dengan mengumpulkan data/informasi, melakukan evaluasi data, teori, informasi atau hasil penelitian, serta menganalisis hasil sumber pustaka. Kajian literatur yaitu cara mengkaji informasi

dengan menelusuri sumber literatur dari buku atau jurnal maupun publikasi penelitian. Sumber literatur yang dicari berkaitan dengan topik yang diambil penulis dengan tujuan untuk mendapatkan karya tulisan tentang suatu topik (Marzali, 2016). *Literature review* menampilkan kerangka kerja yang memiliki kaitan dengan temuan baru maupun temuan sebelumnya yang berfungsi untuk mengidentifikasi keberadaan indikasi kemajuan atau perkembangan dari hasil kajian tersebut. Kajian literatur dilakukan melalui penelitian komprehensif atau menyeluruh dan hasil interpretasi dengan mengidentifikasi pertanyaan penelitian kemudian mencari dan menganalisis literatur yang relevan menggunakan pendekatan sistematis (Sumartiningsih dan Prasetyo, 2019).

Sari dan Asmendri (2020), menjabarkan bahwa pembagian skripsi terdiri dari 3 berdasarkan bahan dan tipe pembahasannya. Pembagian skripsi ini yaitu menurut kajian pustaka, dari penelitian lapangan, serta hasil pengembangan.

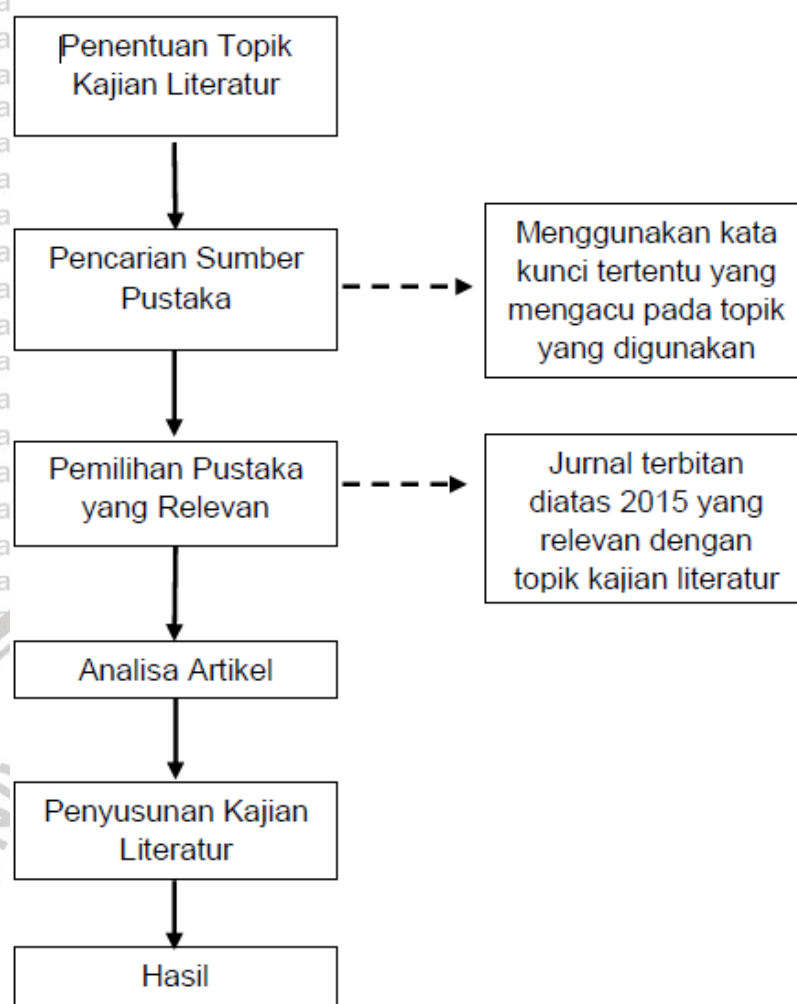
Pada kajian literatur ini termasuk dari jenis skripsi hasil kajian pustaka. Pada kajian literatur ini akan dilakukan pemecahan persoalan yang mengacu pada bahan untuk dikaji sesuai topik dengan cara mengkritisi melalui bahan pustaka yang berkaitan. Bahan pustaka disini berperan sebagai akar untuk menguatkan dan mengembangkan gagasan atau pemikiran lain. Maka dari itu, pola pikir deduktif diperlukan pada kajian literatur. Sedangkan Marzali (2016), menjelaskan bahwa



terdapat jenis review. *Theoretical review* yaitu proses mereview dengan cara menampilkan teori tentang topik yang diambil kemudian melakukan perbandingan sesuai asumsi pribadi dan teori pada bahan pustaka yang digunakan. Objek pembahasan pada kajian literatur ini yaitu mikroenkapsulasi *recombinant protein* mikroalga *Chlorella vulgaris* dengan *adjuvant* CFA (*Complete Freund's Adjuvant*)/IFA (*Incomplete Freund's Adjuvant*) dan Kitosan untuk Ikan Kerapu Cantang (*Epinephelus fuscoguttatus-lanceolatus*) yang terinfeksi *Viral Nervous Necrosis*

## 2.2 Tahapan Pembuatan Kajian Literatur

Penulisan kajian literatur terdiri dari beberapa tahapan supaya memberikan hasil sesuai topik yang diinginkan. Menurut Rahayu *et al.*, (2019), tahapan dalam kajian literatur yaitu (1) menentukan ruang lingkup topik, (2) mencari dan mengumpulkan sumber pustaka yang relevan, (3) mereview literatur, (4) menulis review dan (5) mengaplikasikan literatur pada studi yang akan dilakukan. Tahapan pembuatan kajian literatur diawali dengan penentuan topik, pencarian sumber pustaka, pemilihan pustaka, Analisis pustaka, dan penyusunan pustaka menjadi hasil kajian literatur seperti dijelaskan di Gambar 1. berikut ini



Gambar 1. Tahapan Pembuatan Kajian Literatur

### 2.2.1 Tahapan Topik Kajian Literatur

Tahap pertama merupakan tahap penentu untuk kelanjutan kajian literatur yaitu topik yang akan dibahas. Topik yang akan dipilih bukan berarti harus mendalami semua literatur yang berkaitan tetapi dapat membatasi pembahasan pada kajian literturnya. Pemilihan topik dilakukan dengan pertimbangan penguasaan topik, pemilihan topik yang menarik, penyempitan lingkup permasalahan, ketersediaan data dan fakta objektif, memahami prinsip ilmiah dari topik, dan ketersediaan sumber pustaka (Marzali, 2016). Penentuan topik akan berpengaruh besar pada penyusunan judul kajian literatur.



Topik yang digunakan penulis dalam kajian literatur ini adalah terkait pemanfaatan *Chlorella vulgaris* sebagai solusi penanganan ikan kerapu yang terinfeksi virus VNN, namun topik tersebut terlalu umum sehingga dilakukan pembatasan topik menjadi pemberian *Chlorella vulgaris* dalam bentuk protein rekombinan pada ikan kerapu yang terinfeksi VNN. Topik tersebut dipilih karena masih terbatasnya penelitian yang menjelaskan terkait mikroenkapsulasi recombinant protein mikroalga *Chlorella vulgaris* dengan adjuvant CFA (Complete Freund's Adjuvant)/IFA (Incomplete Freund's Adjuvant) dan Kitosan untuk Ikan Kerapu Cantang (*Epinephelus fuscoguttatus-lanceolatus*) yang terinfeksi Viral Nervous Necrosis. Pemilihan ikan kerapu cangang dikarenakan jenis tersebut banyak dibudidayakan. Kemudian virus VNN merupakan virus yang menginfeksi ikan kerapu hingga menyebabkan kematian massal. Sedangkan pemanfaatan mikroalga *Chlorella vulgaris* dipilih karena latar belakang dari penulis di bidang manajemen sumberdaya perairan. Maka dari itu, penulis memilih topik tersebut berdasarkan pertimbangan-pertimbangan yang sudah dijelaskan.

### 2.2.2 Pencarian Sumber Pustaka

Pencarian sumber Pustaka dilakukan dengan mencari data sekunder yang ditelusuri secara daring melalui mesin pencarian Google seperti platform penyedia pustaka online. Penyedia Pustaka online meliputi *Google scholar*, *Research Gate*, *Elsevier Science Direct*, *Springer*, dan lain-lain. Pencarian pustaka dengan menggunakan *keyword* yang berkaitan dengan topik yang telah dipilih yaitu teknik pemberian protein rekombinan *Chlorella vulgaris* pada ikan kerapu cangang yang terinfeksi VNN. Kata kunci adalah suatu kata yang dapat mewakili suatu gagasan atau konsep yang menandai suatu kelompok (KBBI, 2021). Kata kunci akan memudahkan penulis dalam mendapatkan sumber pustaka yang diinginkan dan sesuai dengan topik.



Pencarian pustaka yang telah sesuai dengan topik berdasarkan kata kunci selanjutnya akan diseleksi untuk dijadikan sumber pustaka kajian literatur penulis.

Selain mencari berdasarkan topik, sumber pustaka harus memenuhi kriteria pustaka seperti batasan tahun dan publikasi sumber terpercaya. Sumber pustaka yang digunakan harus berdasar pada pedoman review skripsi yang telah dikeluarkan oleh Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan yaitu berjumlah 60% sumber pustaka internasional dan 40% jurnal nasional. Batas tahun yang digunakan yaitu 2015-2021. Berikut daftar kata kunci yang digunakan pada pencarian sumber pustaka pada kajian literatur ini dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Kata kunci dan database yang digunakan dalam pencarian pustaka

No	Kata Kunci	Database/Search Engine
1	Ikan Kerapu Cantang	Google scholar, Research Gate, Elsevier Science Direct, Springer
2	<i>Chlorella vulgaris</i>	
3	Protein rekombinan	
4	<i>Viral Nervous Necrosis</i>	
5	Efikasi vaksin ikan kerapu	
6	Jenis imunostimulan	
7	<i>Chitosan as adjuvant</i>	
8	CFA/FCA	
9	IFA/FIA	

### 2.2.3 Pemilihan Sumber Pustaka

Sumber pustaka yang telah melalui tahap pencarian kemudian disortir sesuai dengan relevansi kata kunci dan batasan tahun untuk jurnal utama. Setelah ditemukan di mesin pencarian kemudian akan dilakukan seleksi dan pemilihan sumber pustaka. Penggunaan jurnal utama digunakan untuk sumber pustaka dengan batasan tahun 2015-2021. Pemilihan sumber pustaka dilakukan sesuai dengan topik yang diambil. Kemudian setelah sumber pustaka yang sesuai dengan topik maka akan dikelompokkan sesuai dengan sub bab yang telah dirancang oleh penulis untuk memudahkan pencarian sumber pustaka.



#### 2.2.4 Analisis Sumber Pustaka

Sumber pustaka yang didapatkan akan dianalisis dengan metode *content analysis*. Metode analisis isi ini adalah metode dengan cara mengamati dan menganalisis data secara objektif dari penelitian sebelumnya. Data dari penelitian yang didapatkan dari sumber-sumber pustaka akan menjadikan referensi untuk membandingkan dengan sumber pustaka yang lain sehingga perbandingan tersebut dapat menjadi bahan dari kajian literatur penulis. Analisis data dalam sumber pustaka dilakukan dengan mengkritisi sumber pustaka. Analisis ini disebut dengan *critical appraisal* yang berfungsi untuk menilai kesesuaian pembahasan dengan topik yang dipilih penulis. Kemudian hasil dari penelaahan dilakukan proses pendekatan *simplified approach*. Teknik ini dilakukan dengan mengkompilasi dari sumber-sumber pustaka, diaman hasilnya akan sangat berfungsi untuk data penulis dalam kajian literatur ini.

Tahapan analisis sumber pustaka terdiri dari proses memilih, membandingkan, dan mengevaluasi sumber pustaka yang didapat dilakukan penyesuaian dengan kriteria pustaka yang sesuai dengan tujuan penulis sehingga akan membentuk bahan penulisan dalam kajian literatur. Tahap analisis bertujuan untuk memudahkan penulis untuk menggabungkan setiap pokok pembahasan sehingga menghasilkan kesimpulan dan saran pada bagian akhir kajian literatur. Setiap tahap pembuatan kajian literatur perlu dilakukan pengecekan supaya meminimalisasi kekeliruan dan kesalahan penulisan.

#### 2.2.5 Penyusunan Sumber Pustaka

Tahap penyusunan sumber pustaka adalah tahap akhir dari pembuatan kajian literatur setelah melalui proses analisis data. Metode yang digunakan adalah *Systematic Literature Review*. Metode *Systematic Literature Review*



adalah metode untuk mereview dengan melihat metode yang digunakan pada hasil penelitian dari literatur lain kemudian membandingkan dan mengevaluasinya. Tujuan metode SLR ini untuk mengidentifikasi, mengulas, mengevaluasi, dan memberikan penafsiran pada semua penelitian dengan topik yang dikaji melalui pertanyaan-pertanyaan yang relevan. Metode SLR umumnya digunakan dalam menentukan jadwal penelitian, metode dari disertasi atau tesis, serta publikasi atau pengajuan hibah penelitian (Triandini *et al.*, 2019).

Menurut Ibrahim *et al.*, (2021), objek kajian literatur yang digunakan adalah publikasi dengan metode perancangan dan pengembangan sistem informasi.

Metode pengumpulan data pada kajian literatur ini adalah metode *Systematic Literature Review* (SLR) dimana terdiri dari tiga tahapan yaitu *planning*, *conducting*, dan *reporting*. Berikut tahapan dari metode *Systematic Literature Review* (SLR)

1. *Planning*, tahap pertama yaitu perencanaan dalam proses pencarian dan ekstraksi publikasi. Pencarian data atau sumber pustaka dengan mencari pertanyaan-pertanyaan yang dibutuhkan sesuai keperluan yang akan dijelaskan pada kajian literatur. Pembuatan pertanyaan melalui 5 elemen PICOC, yaitu *Population*, *Intervention*, *Comparison*, *Outcomes*, dan *Contextata*.

2. *Conducting*, tahap kedua ini adalah tahap utama dari pelaksanaan SLR yang telah ditentukan. Proses penyaringan sumber pustaka melalui kriteria inklusi yaitu,

1. Publikasi jurnal dilakukan pada tahun 2015.
2. Data yang diperoleh berasal dari *Google Scholar*.
3. Data yang digunakan berada dalam lingkup perikanan..
4. Data memiliki sumber yang jelas dan dipublikasikan dalam jurnal terakreditasi.



5. Data jurnal utama yang diperoleh telah menjadi acuan untuk penelitian lain minimal satu kali.

Kemudian untuk kriteria *exclusionnya* yaitu penelitian yang tidak ditulis dalam bahasa Indonesia. Data yang telah terkumpul akan dievaluasi berdasarkan kriteria pertanyaan.

3. *Reporting*, tahap penyampaian kajian literatur ini dalam bentuk tulisan.



## BAB 3 HASIL REVIEW

### 3.1 Kondisi Biologis Ikan Kerapu Cantang (*Epinephelus fuscoguttatus-lanceolatus*)

Ikan kerapu berjumlah sekitar 46 spesies yang mampu hidup diberbagai jenis habitat. Tujuh genus diantaranya yaitu Anyperodon, Plectropomus, Asthaloperca, Cephalopholis, Variola, Epinephelus, dan Cromileptes. Ikan komersial dan saat ini mulai banyak dibudidayakan yang termasuk dari ketujuh genus tersebut adalah genus Cromileptes, Plectropomus, dan Epinephelus (Made *et al.*, 2017). Spesies yang bernama kerapu umumnya digunakan genus dari famili Serranidae yaitu Variola, Epinephelus, Plectropomus dan Cromileptes (Anggraini *et al.*, 2018).

#### 3.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Kerapu Cantang

Ikan kerapu cantang adalah hasil hibridasi yang memiliki kecepatan pertumbuhan dan kelangsungan hidup yang baik serta nilai gizi yang tinggi dibandingkan dengan kedua induknya. Induk dari persilangan ikan kerapu cantang ini yaitu kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) betina dan kerapu kertang (*Epinephelus lanceolatus*) jantan. Penamaan "Cantang" diambil dari singkatan ikan kerapu macan dan kertang. Persilangan ikan kerapu cantang dilakukan pada tahun 2010 di Balai Perikanan Budidaya Air Payau (BPBAP) Situbondo (Fanggidae *et al.*, 2018).





**Gambar 2.** Ikan Kerapu Cantang (Sutarmat, 2016)

Menurut Soemarjati *et al.*, (2015), klasifikasi dari ikan kerapu cantang yaitu:

Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Chondrichthyes
Subkelas	: Ellasmobranchii
Ordo	: Percomorphi
Sub ordo	: Percoidea
Family	: Serranidae
Genus	: Epinephelus
Spesies	: Epinephelus sp.

Ikan kerapu ini banyak diminati dan dibudidayakan karena memiliki pertumbuhan yang cepat layaknya ikan kerapu kertang. Sedangkan sifat yang mudah dibiakkan menurun dari ikan kerapu macan serta memiliki kelebihan yaitu tingkat kanibalisme yang rendah (Ismi, 2020). Seperti yang dijelaskan Lutfiyah dan Budi, (2019), bahwa ikan kerapu hibrida mempunyai tingkat pertumbuhan lebih cepat, toleransi terhadap lingkungan buruk dan ruang terbatas tinggi, dan ketahanan baik terhadap penyakit. Pada fase larva kerapu hibrida memiliki pertumbuhan yang cepat apabila dibandingkan dengan ikan kerapu macan. Ukuran rata-rata ikan kerapu hibrida pada umur 90 hari yaitu panjang 12 cm dan ikan kerapu macan sekitar 7 cm (Sutarmat, 2016).



Tubuh ikan kerapu cantang berbentuk *compress*, cenderung membulat dan kepalanya berukuran hampir mencapai dengan lebar badannya. Bentuk mulut dari ikan ini superior dengan bibir bawah yang lebih panjang dibandingkan bibir atas.

Sisik dari ikan kerapu hibrida ini tidak berbeda dari induknya yaitu bertipe ctenoid atau bergerigi. Kemudian sifat karnivora ikan kerapu cantang menyebabkan bentuk giginya meruncing atau canine. Kulit ikan kerapu cantang memiliki warna coklat hampir kehitaman dilengkapi lima garis melintang berwarna hitam.

Sedangkan corak sirip mengikuti induknya yaitu ikan kerapu kertang yang memiliki dasar kuning pucat dengan bintik-bintik. Selain itu, bintik-bintik hitam melebar di bagian kepala, di sekitar sirip *pectoral* dengan jumlah 17 jari-jari lunak dimana jumlah bintik-bintik ini tidak menentu setiap spesies. Bentuk dari sirip punggung ikan kerapu hibrida ini melebar ke arah belakang dengan 15 jari-jari lunak serta 11 jari-jari keras. Kemudian pada sirip ventral memiliki 5 jari-jari lunak dan 1 jari-jari keras. Sirip analnya terdapat 8 jari-jari lunak dengan 2 jari-jari keras, sedangkan pada bagian belakang sirip caudal memiliki bentuk ekor membulat dengan 13 jari-jari lunak (Rochmad dan Mukti, 2020).

Menurut Safia dan Mahyudin (2016), morfologi ikan akan mengalami banyak perubahan ketika larva hingga dewasa. Namun bukan berarti hal tersebut menjadi permasalahan serius karena perubahan morfologi merupakan bentuk adaptasi ikan terhadap lingkungan atau dikarenakan perubahan tingkah laku ikan. Ketika tahap larva perubahan morfologi terjadi sangat signifikan yang kemudian berkembang dan tumbuh menjadi juvenil (Andriyanto dan Marzuqi, 2012)

### 3.1.2 Habitat Ikan Kerapu Cantang

Ikan kerapu hidup di perairan pantai di daerah tropis hingga sub tropis (Prakosa *et al.*, 2013). Larva ikan kerapu secara alami berada di perairan dengan kedalaman 0,5-3 m (Safia dan Mahyudin, 2016). Ketika larva muda ia lebih senang



memilih perairan pantai berpasir, berkarang dan ditumbuhi lamun. Larva kerapu umumnya lebih banyak bersembunyi di liang-liang karang ketika siang hari. Namun ketika hari sudah petang larva dari ikan kerapu akan menampakkan diri ke permukaan lalu aktif mencari makan. (Subyakto dan Cahyaningsih, 2003). Pada fase telur dan larva ikan kerapu bersifat pelagis dan ketika fase muda sampai dewasa akan berubah menjadi iakn demersal. Sehingga pada masa dewasa ikan kerapu akan bermigrasi saat siang menjelang sore hari menuju kedalam perairan sekitar 7-40m. (Adhisurya *et al.*, 2019).

Menurut Sunaryo dan Marmi, (2018), ikan kerapu cantang termasuk golongan stenohalin yaitu ikan pada perairan tertentu yang memiliki toleransi cukup rendah terhadap perubahan salinitas. Ikan kerapu cantang mampu bertahan pada perairan dengan kisaran salinitas 30-33 ppt. Perubahan salinitas akan menyebabkan stres yang mengganggu proses homeostasis fisiologis dan proses biologis pada tubuhnya. Namun terdapat langkah-langkah jika ingin mengaklimatisasi ikan kerapu ke air tawar yaitu dengan merendam 2 x 20 menit selama 30 hari pemeliharaan. Faktor yang akan memengaruhi tingkat kelulushidupannya yaitu pada waktu dan intensitas perendaman. Jika perubahan kadar salinitas lebih rendah maka benih ikan kerapu cantang akan bertahan lama.

### 3.1.3 Kebiasaan Makan Ikan Kerapu Cantang

Pertumbuhan dan perkembangan ikan didukung dengan ketersediaan makanan. Makanan yang dikonsumsi merupakan sumber energi bagi ikan dimana efisiensi pemanfaatannya dipengaruhi oleh kondisi lingkungannya. Lingkungan perairan dengan kondisi isoosmotik akan membantu tingkat efisiensi pemanfaatan energinya baik (Mudiarti dan Zainudin, 2016). Pemberian pakan sebanyak 15% didapatkan pertumbuhan ikan kerapu yang maksimal untuk pertumbuhan ikan. Faktor-faktor yang berpengaruh dalam pemberian pakan yaitu jumlah, jenis, dan



waktu pemberian pakan serta kandungan protein didalamnya (Putra *et al.*, 2014).

Pada ikan kerapu kebutuhan protein berkisar 47,8-60% (Akbar *et al.*, 2012)

Menurut Loekman, *et al.*, (2018), kandungan nutrisi yang terdapat dalam makanan

akan dimanfaatkan untuk proses metabolisme, berenang, merawat tubuh, perbaruan sel, dan pertumbuhan

Menurut Rahmaningsih dan Ari, (2013), ikan kerapu bersifat karnivora sehingga pada perairan alami ikan ini menjadi predator untuk ikan-ikan kecil untuk dimangsanya. Jenis ikan yang menjadi favorit yaitu dari crustacea seperti rebon,

dogol krosok, sedangkan ikan-ikan kecil yaitu tembang, teri dan belanak.

Kebiasaan makan dari ikan kerapu ini yaitu melahap makanan satu persatu yang diberikan sebelum sampai ke dasar perairan. Cara tersebut didasari oleh letak mulut ikan kerapu cantang pada posisi terminal yang terletak di ujung hidung sehingga tidak bisa mengambil makanan yang berada di bawah atau di atas posisi mulut. (Safia dan Mahyudin, 2016)

Jika pada lingkungan budidaya maka ikan kerapu cantang diberikan pakan seperti ikan rucah dan pelet. Ikan rucah memiliki kandungan protein yang cukup rendah jika dibandingkan pakan pellet (Arif dan Regan, 2020). Jika pakan untuk ikan kerapu hanya tersedia pilihan ikan rucah maka pemberiannya dipastikan ikan rucah yang memiliki kualitas baik. Ikan rucah dipilih yang segar dan sudah dibersihkan kepala dan jeroannya. Kemudian dagingnya dipotong kecil-kecil menyesuaikan ukuran mulut ikan. Dalam meningkatkan nutrisi, ikan rucah sebaiknya dicampur dengan vitamin rasio 1-2% atau sekitar 10-20 gram setiap 1 kilogramnya (Ismi *et al.*, 2013). Apabila ikan kerapu yang diberikan tidak segar maka nafsu makan ikan akan menurun. Oleh karena itu pemberian pakan perlu diperhatikan supaya konsumsi pakan oleh ikan dapat meningkatkan daya tahan tubuh, nafsu makan dan dapat mengurangi stres (Septinawati dan Tjahjaningsih, 2010)



### 3.1.4 Sistem Pertahanan Tubuh Ikan Kerapu Cantang

Penyebaran virus pada ikan umumnya disebabkan oleh sistem produksi yang tidak terjaga sanitasi dan kesehatannya. Hal ini akan terjadi lebih cepat jika ikan mempunyai sistem imun buruk (Fitriatin dan Manan, 2015). Menurut Hardi, (2015), sistem pertahanan tubuh ikan kerapu ketika infeksi masuk misalnya dari virus, bakteri, parasit, dan jamur. Umumnya sistem pertahanan pada inang ikan vertebrata meliputi sistem pertahanan spesifik dan nonspesifik.

1. Sistem pertahanan nonspesifik dibentuk dari penghalang terhadap serangan patogen yaitu dari sistem humoral (kimia dan fisik) seperti mukus, kulit, sisik, insang dan pertahanan seluler seperti sel makrofag dan leukosit (monosit, eosinofil, neutrofil, dan basofil).
2. Sistem pertahanan spesifik sebagai respon humoral pada ikan dilakukan oleh antibodi. Antibodi yang bertugas adalah immunoglobulin (Ig) dimana ikan memiliki satu kelas Ig yaitu IgM atau makroglobulin.

Sistem imun alamiah dapat mendeteksi infeksi melalui reseptor. Sedangkan sistem imun adaptif melalui reseptor spesifik. Sistem imun alamiah terdapat pertahanan seluler dengan sel makrofag dan humoral dengan protein, interferon dan enzim-enzim. Sistem imun adaptif juga memiliki dua yaitu respon imun humoral yang dilakukan oleh antibodi yang berasal dari produksi sel-sel limfosit B. Kemudian respon imun adaptif dilakukan oleh sel limfosit T untuk menghancurkan sel-sel yang terinfeksi (Ode, 2013). Reaksi sel imun ketika terinfeksi akan mengaktifkan molekul adaptor di dalam sitokin yaitu TNF- $\alpha$  dan IL-6. Sitokin adalah protein dalam sistem imun yang mengatur interaksi antar sel dan merangsang reaktivitas imun, baik spesifik maupun non spesifik (Yanuhar *et al.*, 2015).



Pengaturan mekanisme sistem kekebalan sangat penting untuk keberhasilan melawan infeksi virus terutama *Viral Nervous Necrosis*. Salah satu protein yang memiliki fungsi signifikan sistem kekebalan adalah  $\beta$ -aktin. Protein ini adalah komponen sitoskeleton yang memiliki fungsi mengatur morfologi sel, pengelompokan reseptor, internalisasi antigen, dan mengatur vesikel dalam pemrosesan antigen. Selain itu,  $\beta$ -aktin dapat memelihara struktur sitoskeletal, sitokenesis, endositosis, motilitas dan adhesi sel (Yanuhar and Khumaidi, 2017).

### 3.1.5 Parameter Kualitas Air

#### A. Suhu

Menurut Adhisurya *et al.*, (2019), parameter suhu yang sesuai dengan lingkungan ikan kerapu berdasarkan SNI 6487.4:2011 yaitu ikan kerapu tumbuh optimal pada 27-30°C. Menurut Ngabito dan Auliyah, (2018), proses metabolisme hanya berfungsi dalam kisaran suhu yang sesuai dengan kebutuhan ikan. Suhu yang tidak stabil akan mengakibatkan metabolisme ikan terganggu. Faktor yang memengaruhi suhu adalah musim, lintang, ketinggian dari permukaan laut, waktu, sirkulasi udara, tutupan awan, dan kedalaman air ditambahkan oleh Kusumawati *et al.*, (2017), yaitu curah hujan, penguapan, kelembaban udara, kecepatan angin dan intensitas cahaya matahari. Pengaruh waktu pengukuran berpengaruh ketika dilakukan pengambilan pada siang hari maka suhu akan lebih tinggi karena intensitas cahaya matahari yang masuk ke perairan lebih banyak daripada pagi atau malam hari (Anggraini *et al.*, 2018).

Menurut Eshmat dan Manan, (2013), dalam pembenihan ikan kerapu cantang langkah yang dapat dilakukan untuk mengantisipasi perubahan suhu yaitu mengendapkan air terlebih dahulu di tandon. Kemudian ditunggu hingga beberapa hari, setelah itu bisa dialirkan ke kolam pembenihan ikan Kerapu cantang. Suhu yang tinggi mengurangi oksigen terlarut dan selera makan ikan. Perubahan suhu



dapat menyebabkan ikan stres. Stres menjadikan tingkat kelulushidupan ikan akan menurun (Samsisko *et al.*, 2014). Namun menurut Sembiring *et al.*, (2018), peningkatan suhu hingga 35°C mampu menghambat perkembangbiakan virus *Viral Nervous Necrosis* sehingga kematian ikan berkurang.

## B. Oksigen Terlarut

Menurut Ngabito dan Auliyah (2018), oksigen terlarut dalam air dibutuhkan oleh semua organisme hidup pada proses respirasi, maka konsentrasi oksigen dalam perairan menjadi faktor pembatas untuk pertumbuhan. Oksigen terlarut dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor yaitu ketika ikan rucah sebagai pakan diberikan berlebihan maka terjadi pembusukan dimana proses tersebut akan memanfaatkan oksigen dari air dan menyebabkan kadar oksigen terlarut menurun (Akbar *et al.*,2012) Selain itu, kadar oksigen terlarut dipengaruhi oleh perubahan suhu. Ketika suhu tinggi, maka kelarutan oksigen akan semakin menurun yang disebabkan oleh tingginya kegiatan metabolisme. Ikan yang tidak mampu bertahan pada keadaan ini bisa mengalami stres dan resisten terhadap penyakit (Rahmawanti *et al.*, 2021).

Kadar oksigen terlarut akan bervariasi jika kedalaman perairan berbeda-beda. Variasi kadar oksigen terlarut juga dimungkinkan terjadi selama 24 jam (Panigoro dan Juliana,2017). Kadar oksigen terlarut pada pemeliharaan ikan kerapu cantang yang optimal yaitu tidak boleh kurang dari 4 mg/l. Kadar oksigen terlarut jika dibawah 4 mg/l meskipun ikan masih mampu bertahan hidup beberapa saat namun nafsu makan ikan berkurang (Kusumawati *et al.*, 2017). Nafsu makan yang menurun memudahkan ikan terserang penyakit dan pertumbuhannya terhambat (Lamanasa *et al.*, 2014).

## C. pH

Pengelolaan setiap parameter kualitas perairan berperan penting terhadap metabolisme pertumbuhan ikan. pH (pulscae negatif H) atau derajat keasaman



merupakan logaritma dari jumlah ion-ion hidrogen yang terlepas dalam satu cairan (Putra *et al.*, 2014). Menurut Iswanto *et al.*, (2015), derajat keasaman berfungsi sebagai indikator dalam mengetahui keseimbangan unsur-unsur kimia dalam suatu perairan. pH juga dapat memengaruhi pada ketersediaan unsur hara yang sangat bermanfaat untuk ikan. Apabila pH perairan memiliki nilai yang sangat mudah berubah baik terlalu asam maupun basa maka keseimbangan ekologi akan terganggu (Valentino *et al.*, 2018).

Kisaran pH air yang sesuai untuk pertumbuhan ikan kerapu cantang pada budidaya berkisar 6,5–9,0. Kemudian pada kondisi ikan kerapu cantang berselera untuk makan didapatkan pH 7,5–8,5 (Dody dan Rae, 2016). Menurut Hardi, (2015), nilai pH perlu diperhatikan karena dalam suatu keadaan dapat menyebabkan ikan mati mendadak. Hal ini dikarenakan ketika pH rendah maka ion  $H^+$  akan meningkat. Kemudian ion negatif pada insang ikan keluar dan terjadi masukan ion positif yang menjadikan keseimbangan sel insang tidak seimbang. Akibatnya terjadi respon pada insang yaitu mengeluarkan lendir sehingga  $O_2$  sulit diserap dan masuk dalam tubuh ikan.

#### **D. Salinitas**

Salinitas merupakan kadar garam terlarut dalam air yang menentukan karakteristik habitat organisme air. Proses biokimia di dalam dan di luar sel sangat dipengaruhi oleh salinitas (Sunaryo dan Marmi, 2018). Salinitas secara langsung mempengaruhi proses osmoregulasi dari setiap organisme akuatik. Energi yang seharusnya dapat dimanfaatkan maksimal pada pertumbuhan, dengan adanya fluktuasi salinitas yang tinggi akan mengganggu semua fungsi fisiologis ikan sehingga menghabiskan energi (Novriadi *et al.*, 2015). Sebab energi yang dibutuhkan untuk berenang dan osmoregulasi saja mempunyai proporsi yang cukup besar sekitar 20-50% dari keseluruhan energi yang didapatkan ikan (Setiawati *et al.*, 2017).

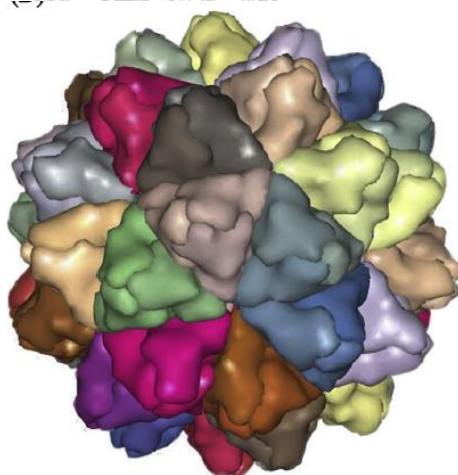


Menurut Jaelani *et al.*, (2016), menjelaskan bahwa kisaran salinitas yang baik dalam kegiatan budidaya ikan kerapu yaitu 30-34 ppt. Salinitas yang tidak sesuai berpengaruh pada tingkat produksi tidak maksimal sehingga pertumbuhan ikan terganggu. Kadar salinitas yang berfluktuasi menyebabkan organ ginjal dan insang terganggu untuk mengatur osmosis pada cairan tubuh. Selain itu, dapat menghambat pertumbuhan dan ikan menjadi stres (Putra *et al.*, 2014).

### 3.2 Virus *Viral Nervous Necrosis*

*Viral Nervous Necrosis* (VNN) yang menginfeksi ikan laut dan banyak dibudidayakan di Indonesia telah ditetapkan dalam Kepmen nomor 26 tahun 2013 sebagai Hama Penyakit Ikan Karantina (HPIK) Golongan I (Fitriatin dan Manan, 2015). VNN bersifat akut dan termasuk pada penyakit ikan serius yang disebabkan oleh Betanodavirus. Sebelumnya virus ini dikenal *Viral Encephalopathy and Retinopathy* (VER) dan telah dilaporkan di lebih dari 50 spesies ikan di seluruh dunia. VNN pada ikan menyebabkan nekrosis, vakuolasi otak, sumsum tulang belakang, dan mata (Ariff *et al.*, 2019).

#### 3.2.1 Klasifikasi dan Morfologi



**Gambar 3.** Model Tiga Dimensi Protein Kapsid VNN pada Ikan Kerapu Totol Oranye (Lin *et al.*, 2016)



Betanodavirus tidak terbungkus, berbentuk bulat, dan berdiameter sekitar 25-30 nm dengan bentuk ikosahedral T = 3 simetri dimana setiap satu protein terdiri 180 salinan. Genom virus terdiri dari dua untai tunggal molekul RNA sense positif yaitu RNA1 ( $1,01 \times 10^6$  Da) dan RNA2 ( $0,49 \times 10^6$  Da) dan dikemas bersama menjadi satu virion (Bandin and Souto, 2020). Diameter virion yang tidak memiliki pelindung adalah 25-30 nm. Diameter rata-rata virus kapsid sekitar 37 nm. (Yuwanita *et al.*, 2013)

Protein mantel adalah penyusun protein struktur virion VNN. Selain sebagai pelindung VNN dari asam nukleat tetapi juga memiliki peran dalam proses infeksi pada sel target. Protein mantel VNN dengan berat molekul 40-45 kD memiliki sifat untuk membangkitkan kekebalan sistem yang menyebabkan proliferasi dan ekspresi molekul sel CD4, CD8, IFN- $\gamma$  dan NFkB di otak, jantung dan organ ginjal ikan kerapu (Yuwanita *et al.*, 2013). Berdasarkan mantel urutan gen protein, betanodavirus memiliki empat genotipe utama sesuai nama inangnya yaitu *Barfin Flounder* NNV (BFNNV), *Tiger Puffer* NNV (TPNNV), *Striped Jack* NNV (SJNNV), dan *Red Spotted Kerapu* NNV (RGNNV) (Haddad-Boubaker *et al.*, 2013).

### 3.2.2 Perbedaan Virus RNA dan DNA

Menurut Usmar *et al.*, (2017) virus diklasifikasikan sesuai genomnya yaitu virus RNA single-stranded (ssRNA), virus RNA double-stranded (dsRNA), virus DNA double-stranded (dsDNA), dan virus DNA singlestranded (ssDNA). Sedangkan pada RNA terdapat 2 jenis virus ssRNA yaitu sense strand atau positive sense/positive-stranded dimana genomnya (RNA) bekerja sebagai mRNA. Selanjutnya antisense strand atau negative sense/negativestranded



dimana genomnya bekerja sebagai media untuk membentuk mRNA (+ strand).

Perbedaan DNA dan RNA dijelaskan melalui Tabel 2.

**Tabel 2.** Perbandingan DNA dan RNA (Amri *et al.*, 2019)

Perbedaan	DNA	RNA
Rantai	Umumnya <i>double stranded</i>	<i>Single stranded</i>
Kemampuan mutasi	Rendah	Tinggi
Tempat replikasi	Nukleus	Sitoplasma
Gula	Deoxyribose	Ribose
Kestabilan pada kondisi alkalin	Stabil	Tidak stabil
Basa	Adenine-thymin (AT), Cytocine-guanine (CG)	Adenin-uracil (AU), cytocine-guanine (CG)
Replikasi	Mereplikasi sendiri	RNA disintesis dari DNA berdasarkan kebutuhan
Asam nukleat	Menyimpan dan mentransfer informasi genetik	Mengkode asam amino dan sebagai messenger antara DNA dan ribosom untuk membuat protein

Virus yang menginfeksi ikan dan menyebabkan penyakit terwakili dalam 14 famili yang terdaftar untuk virus vertebrata oleh Komite Internasional untuk Taksonomi Virus (27 Mei 2005). Virus ikan yang mengandung genom DNA termasuk dalam famili Iridoviridae, Adenoviridae, dan Herpesviridae dan yang memiliki genom RNA tercantum dalam famili Picornaviridae, Birnaviridae, Reoviridae, Rhabdoviridae, Orthomyxoviridae, Paramyxoviridae, Caliciviridae, Togaviridae, Nodaviridae, Retroviridae, dan Coronaviridae. Karena lebih banyak spesies ikan yang dibudidayakan, akan ada penambahan pada daftar ini, dan kemungkinan virus baru akan ditempatkan pada famili yang sebelumnya tidak dicirikan pada vertebrata. Berikut contoh Virus DNA dan RNA yang menyerang organisme akuatik menurut Leong (2008) pada Tabel 3.



**Tabel 3. Virus DNA dan RNA pada Ikan**

DNA	RNA
<p>Famili: Iridoviridae  Genus: a Iridovirus, Lymphocystivirus, Ranavirus, dan Megalocystivirus</p>	<p>Famili: Picornaviridae  Ikan yang terinfeksi: sea bass, rainbow smelt (<i>Osmerus mordax</i>), barramundi, Japanese parrotfish (<i>Oplegnathus fasciatus</i>), turbot, grass carp, grouper (<i>Epinephelus tauvina</i>), blue gill, dan salmon</p>
<p>Adenoviridae  Pada ikan yang telah diisolasi dari ikan putih sturgeon, Dabs (Limanda limanda), cod, ikan laut merah Jepang, dan sturgeon putih</p>	<p>Famili: Rhabdoviridae,  Genus: Novirhabdovirus in the Rhabdoviridae.  Virus:  <i>Snakehead rhabdovirus</i> (SHRV)  <i>Infectious hematopoietic necrosis virus</i> (IHNV)  <i>Hirame rhabdovirus</i> (HIRRV)  <i>Viral hemorrhagic septicemia virus</i> (VHSV)</p>
<p>Famili: Herpesviridae  Sub famili:  Alphaherpesvirinae, Betaherpesvirinae, dan Gammaherpesvirinae.  Terinfeksi pada ikan <i>Ictalurus punctatus</i>, <i>C. carpio</i>, <i>Carassius auratus</i>, masou salmon, <i>Anguilla</i> spp., rainbow trout, lake trout sturgeon, Japanese flounder, dan walleye</p>	<p>Paramyxoviridae, Chinook salmon juveniles in Oregon.</p>
	<p>Famili: Retroviridae,  Subfamili: Orthoretrovirinae dan Spumaretrovirinae  Terdapat enam genus pada Orthoretrovirinae dan Spumaretrovirinae hanya mengandung satu genus.</p>
	<p>Famili: Reoviridae  Genus: Aquareovirus  Contoh: Grass carp virus (GCV; species Aquareovirus C)</p>
	<p>Famili: Birnaviridae  Genus: <i>Aquabirnavirus</i>, <i>Avibirnavirus</i>, and <i>Entomobirnavirus</i>.</p>
	<p>Famili: Caliciviridae  Genus: Vesivirus  Virus: San Miguel sea lion virus (SMSV)</p>
	<p>Famili: Orthomyxoviridae, Infectious salmon anemia virus (ISAV) adalah satu-satunya ikan orthomyxovirus</p>
	<p>Famili: Togaviridae  Genus: Alphavirus and Rubivirus,</p>



Famili: Nodaviridae

Genus: Betanodavirus

*Atlantic cod nervous  
necrosis virus* (ACNNV)

*Atlantic halibut  
nodavirus* (AHNV)

*Dragon grouper  
nervous necrosis virus* (DGNNV)

*Greasy grouper  
nervous necrosis virus* (GGNNV)

*Japanese flounder  
nervous necrosis virus* (JFNNV)

*Malabaricus grouper  
nervous necrosis virus* (MGNNV)

*Seabass nervous  
necrosis virus* (SBNNV)

*Solea senegalensis  
nervous necrosis virus* (SSNNV)

*Turbot nodavirus* (TNV)

*Barfin Flounder NNV* (BFNNV)

*Tiger Puffer NNV* (TPNNV)

*Striped Jack NNV* (SJNNV)

*Red Spotted Kerapu* (RGNNV) Haddad-  
NNV Boubaker et al.,  
2013

### 3.2.3 Habitat dan Distribusi

Penularan penyakit ini bisa terjadi secara vertikal maupun horizontal. Di Indonesia, serangan VNN pertama terjadi di tempat pembenihan ikan kakap di Jawa Timur pada tahun 1997. Serangan berikutnya terjadi pada 1998 dan menyebabkan kematian 100% pada ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*)

(Nurlita *et al.*, 2020). Penyebaran VNN melalui transmisi transmisi vertikal usus berperan dalam pelepasan virus sehingga telur ikan kontaminasi (Bandin and Souto, 2020). Menurut Doan *et al.*, (2020), transmisi horizontal adalah rute yang sangat sulit untuk dikendalikan karena media air resisten dalam penyebaran betanodavirus. Transmisi horizontal ditunjukkan oleh beberapa cara penyebaran yaitu kontak antara ikan sehat dan larva yang sakit, memandikan ikan di air yang berisi jaringan yang terinfeksi betanodavirus, homogenates kontaminasi menggunakan strain yang diisolasi dari ikan yang bergejala, dan kontak ikan sehat dengan asimtomatik operator.

Penyebaran virus dipengaruhi oleh kondisi lingkungan yang dapat membuat ikan stres. Faktor yang lain yaitu ukuran, umur spesies dan dosis virus. Kondisi lingkungan suhu air yang relatif tinggi dan volatilitas rendah berperan pada pertumbuhan, replikasi virus dan penularan virus. Umumnya suhu dan dosis yang tinggi lebih sensitif terhadap ikan yang lebih kecil dan muda sehingga gejala klinis lebih mudah muncul (Zorriezhahra *et al.*, 2019). Faktor suhu lingkungan bergantung pada RNA1 dan musim tropisme ikan juga ditentukan oleh RNA2. VNN bisa jadi patogenetik dalam kondisi cuaca yang berbeda. Misalnya pada genotipe RGNNV lebih mudah menginfeksi pada suhu air hangat sekitar 25-30°C dan genotipe BFNNV lebih menyukai pada suhu dingin sekitar 15-20°C (Nita *et al.*, 2019).

#### 3.2.4 Mekanisme Infeksi VNN

Peran sel saraf sebagai agen VNN merupakan target reseptor protein yang penting untuk menetralkan VNN selain organ lain seperti jantung dan ginjal yang berfungsi untuk sirkulasi dan osmoregulasi darah pada tubuh ikan.  $\beta$ -aktin adalah protein yang berperan penting dalam sistem imun terhadap infeksi patogen seperti *clustering* reseptor, internalisasi antigen, dan mengatur pergantian vesikel untuk



pemrosesan antigen (Khumaidi *et al.*, 2015). Mekanisme infeksi virus ini adalah terbentuknya ikatan antara adhesin VNN dengan molekul reseptornya pada organ ikan kerapu. Adhesin seperti haemagglutinin terdapat komponen dasar virus yaitu mantel protein dan asam nukleat. Protein mantel VNN merupakan faktor utama dalam mekanisme virus menginfeksi inang dimana protein melekatkan virus ke reseptor inang (Yuwanita *et al.*, 2013). Terdapat 3 cara VNN menginfeksi ikan menurut Sudaryatma *et al.*, (2012), melalui sel-sel epitelia saluran pencernaan, melalui akson yang ada di permukaan sel, dan melalui peredaran darah.

Saat virus menginfeksi inang, maka virus dibaca oleh reseptor seluler yang memicu sel untuk bertindak membatasi supaya tidak menyebar. Tindakan pencegahan ini termasuk dalam sintesis protein efektor. Sintesis tersebut di dalam sel berfungsi dan sitokin yang disekresikan berperan memberikan sinyal untuk mengingatkan sel yang lain (Khumaidi, 2016). Setelah masuk ke sel inang dengan penetrasi maka virus berkembang biak di dalam sitoplasma. Kemudian virus masuk melalui epitel usus dan sistem saraf tepi untuk bereplikasi (Nita *et al.*, 2019). Replikasi mengikuti virus RNA untai positif menggunakan inisiasi internal model transkripsi. Kemudian virus masuk ke dalam sistem saraf pusat melewati saraf perifer nervus Vagus (Zorriehzakra *et al.*, 2019).

Salah satu efek inflamasi yang disebabkan oleh paparan ligan atau virus sebagai patogen pada sel inang menyebabkan reaksi inflamasi. Peradangan merupakan respon reaksi pengikatan ligan dengan reseptor pada sel inang karena adanya infeksi VNN (Yanuhar *et al.*, 2015). Otak, sumsum tulang belakang dan retina dianggap sebagai organ target tempat virus bereplikasi secara aktif menyebabkan vakuolasi jaringan yang luas (Yuwanita *et al.*, 2013).

### 3.2.5 Deteksi *Viral Nervous Necrosis* Pada Ikan Kerapu Cantang

- Ekstraksi RNA (VNN)



Pada penelitian ini ekstraksi RNA digunakan untuk mendapatkan virus RNA *Viral Nervous Necrosis* pada organ target ikan kerapu cantang. Organ target distribusi VNN pada benih ikan kerapu cantang yaitu organ otak. Tahapan berdasarkan (SNI 7546.1 : 2015) yaitu sebagai berikut :

- Mengisolasi organ target sebanyak 20-50 mg ke dalam mikrotube 1,5 ml.
- Menambahkan 500  $\mu$ l larutan kit *RNA extraction solution* (TRIzol®) ke dalam mikrotube, kemudian menggerus dengan pastel penggerus sampai halus, selanjutnya di diamkan pada suhu 25-30  $^{\circ}$ C selama 5 menit.
- Menambahkan 100  $\mu$ l kloroform dan vortex 15 detik kemudian menginkubasi pada suhu ruang 2-3 menit
- Mensentrifugasi pada kecepatan 12000 x g (12000 rpm r = 6 cm) selama 15 menit pada 4  $^{\circ}$ C
- Memindahkan 200  $\mu$ l supernatan ke dalam mikrotube baru dan tambahkan 200  $\mu$ l isopropanol, selanjutnya vortex selama 15 detik.
- Mensentrifugasi pada kecepatan 12000 x g selama 10 menit pada 4  $^{\circ}$ C.
- Kemudian supernatan diambil dan segera digunakan maka disimpan pada deep freezer suhu -20  $^{\circ}$ C, apabila digunakan dalam jangka waktu yang lama, maka disimpan pada suhu -80  $^{\circ}$ C.

• Amplifikasi

- Pada penelitian ini untuk mendeteksi virus VNN menggunakan nested RT-PCR, adapun tahapannya yaitu :
  - Setelah ekstraksi RNA, selanjutnya proses amplifikasi dengan urutan proses nested RT-PCR menggunakan Go Taq® Green Master Mix (promega) dengan primer yaitu :

VNN adalah 2 set primer spesifik (Thiery et al., 1999) yaitu :

F2 : 5'-CGTGTCTCAGTCATGTGTCGCT-3'

R3 : 5'-CGAGTCAACACGGGTGAAGA-3'



NF2 : 5'-GTTCCCTGTACAACGATTCC-3'

NR3 : 5'-GGATTTGACGGGGCTGCTA-3'

Pasangan primer spesifik VNN antara F2 dan R3 serta NF2 dan NR3 terdeteksi pada 294 bp.

- Menyiapkan kontrol positif VNN dari contoh dan kontrol negatif atau non template control,
- Menyiapkan bahan untuk pendukung RT-PCR yaitu sebagai berikut (Tabel 4).

**Tabel 4.** Susunan Bahan Amplifikasi

No	Reagen RT – PCR	Volume (µl)	Konsentrasi Akhir
1	Nuclease free water	14,725	-
2	5x PCR Buffer	5,00	1 x
3	MgCl <sub>2</sub> 25 mM	1,50	1,5 mM
4	dNTPmix (10 mM)	0,50	200 µM
5	Primer F2 (10 µM)	0,50	0,2 µM
6	Primer R3 (10 µM)	0,50	0,2 µM
7	DNA Taq Polymerase 5 U/µl	0,125	0,625 U
8	RNAase inhibitor (40 U/µl)	0,05	2 U
9	AMV Reverse transcriptase (10 U/µl)	0,10	1 U
	RNA Template	2,00	0,4 ng – 4 ng
Total		25	

- Menyebar bahan pada masing-masing mikrotube 0,2 ml dengan volume 23 µl.
- Menambahkan template atau contoh uji RNA, termasuk kontrol positif dan kontrol negatif (ddH<sub>2</sub>O), pada masing-masing tabung mikro sebanyak 2µl.
- Menghomogenkan dan memasukkan tabung mikro kedalam mesin PCR (thermocycler).
- Mengoperasikan amplifikasi (Tabel 5)

**Tabel 5.** Kondisi Amplifikasi nested RT-PCR

No	Reaksi	Suhu (°C)	Waktu	Jumlah Siklus
1	Inkubasi	45	30	1
2	Inaktivasi Reverse-transcriptase	94	2	1
3	Denaturasi	94	30	40
4	Annealing	60	30	
5	Extention	72	45	
6	Final extention	72	10	1

### 3.2.6 Gejala Klinis Ikan kerapu Cantang yang Terinfeksi VNN

Menurut Nurlita *et al.*, (2020), penyakit biasanya menginfeksi hampir keseluruhan fase pertumbuhan ikan khususnya tahap larva dan benih. *Viral Nervous Necrosis* (VNN) salah satu penyakit serius yang menyerang ikan kerapu pada sistem saraf pusat, retina mata, dan organ reproduksi. Menurut Yanuhar dan Khumaidi, (2017), infeksi VNN pada sel saraf menyebabkan nekrosis, vakuolisasi, hipertrofi serta terjadi pembengkakan pada organ limpa dan ginjal (Novriadi *et al.*, 2015). Menurut Junirahma dan Yanuhar, (2020), respon tubuh ikan setelah terinfeksi yaitu akan mengalami peradangan sebagai respon non spesifik terhadap kerusakan jaringan. Dalam perlawanannya terhadap patogen yang masuk ikan menggunakan sistem kekebalan bawaan dan sistem kekebalan adaptif.

Ikan sehat membutuhkan waktu 4 hari kontak untuk terinfeksi melalui perendaman dalam suspensi virus atau injeksi (Saber *et al.*, 2017). *Nodaviruses* dapat terdeteksi pada ikan tanpa tanda-tanda penyakit klinis (Lestari dan Sudaryatma, 2014). Namun secara umum tanda-tanda ikan kerapu cantang yang telah terinfeksi VNN yaitu menurunnya nafsu makan, pergerakan ikan lemah, tubuh berwarna pucat. Lalu gejala spesifiknya yaitu ikan berenang tidak beraturan, berputar-putar, badan terbalik. Hal tersebut disebabkan karena fungsi mata mengalami kerusakan dan menunjukkan keseimbangan ikan sudah hilang (Sembiring *et al.*, 2018).

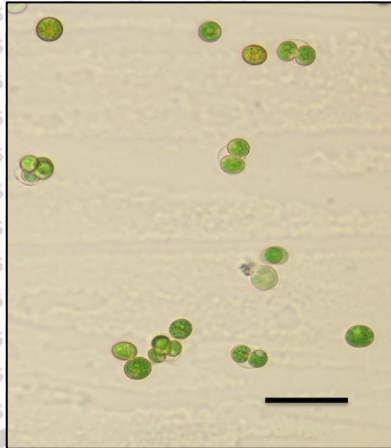


Gejala klinis setiap tahap pertumbuhan ikan kerapu akan menunjukkan perubahan tingkah laku yang berbeda-beda. Pada umur 45 hari sampai 4 bulan, ikan kerapu berdiam diri di dasar, tubuhnya akan terbalik ke permukaan, pergerakan menurun, nafsu makan berkurang dratis, serta warna kulit lebih gelap. Setelah muncul gejala klinis jika tidak mendapat penanganan umumnya 3 sampai 5 hari ikan kerapu akan mati. Kondisi-kondisi tersebut dapat meningkatkan risiko infeksi VNN hingga kematian ikan (Sudaryatma *et al.*, 2012). Faktor-faktornya adalah penanganan ikan yang buruk, pemahaman serta penerapan sanitasi lingkungan oleh pembudidaya yang rendah (Khumaidi *et al.*, 2019)

### 3.3 Aplikasi *Chlorella vulgaris* sebagai Imunostimulan

Menurut Daliry *et al.*, (2017), *Chlorella vulgaris* adalah mikroorganisme fotosintetik dan eukariotik dari keluarga Chlorellaceae. Kelebihan spesies ini yaitu pertumbuhannya cepat, kultur mudah dan fleksibel, serta cukup tahan terhadap faktor yang mengganggu. Mikroalga ini sudah dimanfaatkan untuk kebutuhan industri makanan, budidaya, kosmetik, farmasi, pengolahan air limbah dan produksi biofuel. *Chlorella vulgaris* juga digunakan untuk pengobatan medis karena memiliki sifat modulasi kekebalan, anti-kanker, dan sifat perlindungan terhadap patogen. Namun, efek *Chlorella* pada kekebalan spesies penting akuakultur masih terbatas (Khani *et al.*, 2017). Sehingga dalam kajian literatur ini akan membahas potensi dan kandungan dalam *Chlorella vulgaris* yang dapat dimanfaatkan sebagai imunostimulan.

### 3.3.1 Klasifikasi dan Morfologi



**Gambar 4.** *Chlorella vulgaris* (Sumber: Arguelles *et al.*, 2019)

Menurut Ramaraj *et al.*, (2016), pengelompokan taksonomi berdasarkan morfologi dan sifat fisiologis *Chlorella vulgaris* yaitu,

Kingdom: Plantae

Divisi: Chlorophyta

Kelas: Chlorophyceae

Ordo: Chlorococcales

Famili: Oocystaceae

Genus: *Chlorella*

Spesies: *Chlorella vulgaris*

Mikroalga umumnya berukuran sel tunggal dari beberapa hingga puluhan mikrometer. Ukuran dan struktural individu fungsi mikroalga serta struktur makan dan tahap pertumbuhan berbeda. Misalnya, mikroalga yang kaya asam eicosapentaenoic (EPA) atau asam docosahexaenoic (DHA). Tingkat pertumbuhan yang cepat, kemampuan beradaptasi terhadap lingkungan stres dan sejumlah besar biokimia senyawa yang dihasilkan oleh mikroalga menunjukkan potensi besar mikroalga untuk berbagai aplikasi (Ma *et al.*, 2020).



Mikroalga *Chlorella vulgaris* yang berbentuk bulat seperti telur, berwarna hijau karena memiliki pigmen klorofil yang dominan dibandingkan pigmen yang lain. *Chlorella vulgaris* dapat bergerak tetapi sangat lambat (Novianti et al., 2019). Mikroalga ini bersifat pelagis dan ditemukan di kolom air, artinya mereka dapat berinteraksi dengan semua jenis bahan partikulat berapa pun kepadatannya (Romero et al., 2020). *Chlorella vulgaris* memiliki dinding sel yang halus, kloroplas berbentuk seperti cangkir dengan sebuah pyrenoid tunggal, diameter sel sekitar 2,5 - 3,5  $\mu\text{m}$ , dan perkembangbiakannya melalui sel proliferasi melalui produksi autospora (Arguelles et al., 2019). Mikroalga ini memiliki laju pertumbuhan yang cepat dan sangat ideal untuk produksi karena sangat tahan melawan kondisi yang keras (Saber et al., 2017).

### 3.3.2 Habitat

Mikroalga bisa ditemukan di setiap perairan yang mendapat sinar matahari seperti di danau, sungai, mata air dan samudra (Zullaikah et al., 2019). *Chlorella* mudah ditemukan di semua habitat air dan telah diisolasi dari air tawar serta habitat air laut (Fretes et al., 2012). Mikroalga dapat tumbuh di air tawar dan laut juga di hampir setiap kondisi lingkungan di bumi (Safi et al., 2014). Faktor yang memengaruhi pertumbuhan mikroalga terdiri dari faktor kimiawi dan fisika. Faktor kimiawi yaitu nutrisi yang berasal dari asupan makanan. Sedangkan faktor fisika bergantung pada lingkungan tempat mikroalga hidup sehingga parameter kualitas lingkungan perairan atau media tumbuhnya perlu diperhatikan (Daliry et al., 2017).

Menurut Ahmad et al., (2018), *Chlorella vulgaris* tumbuh di suhu 25–30 °C dengan menunjukkan pertumbuhan yang lebih baik dan komposisi nutrisi lebih lengkap. pH optimal untuk pertumbuhan sebagian besar mikroalga spesies berkisar antara 7-9. *Chlorella vulgaris* memiliki kemampuan fotosintesis dan perkembangbiakan yang tinggi di bawah kondisi autotrofik, mixotrofik dan



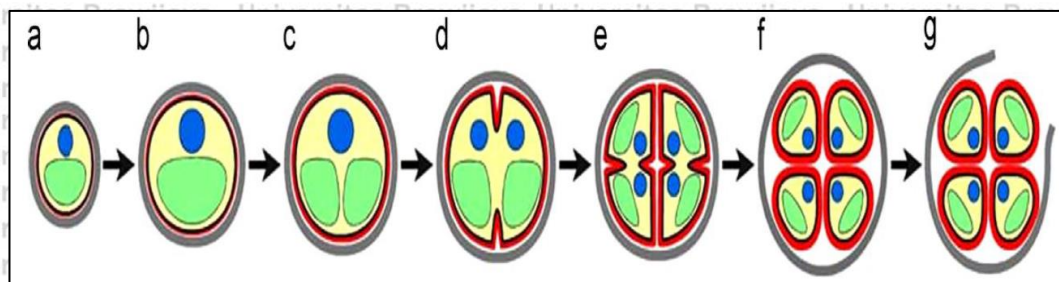
heterotrofik (Ru *et al.*, 2020). Pertumbuhan *Chlorella* sp. dapat berjalan baik pada tempat yang mengandung cukup unsur hara. Unsur hara dalam jumlah besar atau makronutrien yang dibutuhkan seperti karbon, nitrogen, fosfor, sulfur, natrium, magnesium dan kalsium. Sedangkan kebutuhan mikronutrien atau unsur hara dalam jumlah relatif sedikit adalah besi, tembaga, mangan, seng, silikon, boron, molybdenum, vana-dium, dan kobalt (Mufidah *et al.*, 2017).

### 3.3.3 Siklus Hidup

Sel alga memanfaatkan sinar matahari untuk fotosintesis. Laju fotosintesis tersebut melebihi laju respirasi *Chlorella* sel sebanyak 10–100 kali. Spesies ini memiliki siklus reproduksi aseksual. Produksi autospora (non motil) dari sel yang berukuran besar dan matang. Bentuk sporangia berkisar antara 5 dan 7,5  $\mu\text{m}$ , sebelum terbelah empat sel anak (Reimann *et al.*, 2020). Setelah sel matang kemudian membelah menjadi empat sel baru setiap 16-20 jam. (Ramaraj *et al.*, 2016). Dinding sel induk yang pecah akan menyisakan sel-sel induk dan menjadi sumber makanan oleh sel anak yang baru terbentuk (Safi *et al.*, 2014). Proses pematangan dan pemecahan sel tersebut dikenal sebagai autosporulasi (Ru *et al.*, 2020).

Siklus hidup dari *Chlorella vulgaris* seperti pada gambar 3 dibawah ini dijelaskan oleh Yamamoto *et al.*, (2015) yaitu (a) fase pertumbuhan sel awal, (b) fase pertumbuhan sel (fagositosis), (c) fase pembelahan kloroplas, (d) fase pembelahan protoplas awal, (e) fase pembelahan protoplas akhir (f) sel anak fase pematangan, (g) fase penetasan.





**Gambar 5.** Autosporeulasi *Chlorella vulgaris* (Ibrahim *et al.*, 2020)

Keterangan: (a) fase pertumbuhan sel awal, (b) fase pertumbuhan sel (fagositosis), (c) fase pembelahan kloroplas, (d) fase pembelahan protoplas awal, (e) fase pembelahan protoplas akhir (f) sel anak fase pematangan, (g) fase penetasan

### 3.3.4 Kandungan *Chlorella vulgaris*

Menurut Safi *et al.*, (2015), *Chlorella vulgaris* memiliki dinding sel yang kaku dan terdiri dari selulosa,  $\beta$ 1–3 glukan, glukosamin, protein, lipid dan abu. *Chlorella vulgaris* dewasa mampu mengakumulasi 1–2% klorofil dari berat keringnya. Klorofil tersebut yang memberikan warna hijau pekat terletak di tilakoid. Kandungan polisakarida selulosa selama pematangan pada dinding selnya akan menebal hingga 17-21 nm. Lapisan yang menebal seperti kitosan disebut mikrofibrillar. Lapisan tersebut menjadi salah satu penyebab *Chlorella vulgaris* berdinding sel kaku dan dapat meningkatkan ketahanan supaya kandungan didalamnya terjaga. *Chlorella vulgaris* mengandung (42–58% protein), (5–40% lipid), pigmen seperti klorofil dan karotenoid, vitamin dan mineral. Kandungan tersebut umumnya digunakan untuk biofuel, sumber nutrisi, pengolahan air limbah dan pakan (Saber *et al.*, 2017).

#### Protein

Protein diperlukan untuk pertumbuhan, perbaikan dan pemeliharaan dimana sel *Chlorella vulgaris* memiliki kandungan protein total 43–58% dari berat keringnya sesuai dengan kondisi pertumbuhan (Safi *et al.*, 2014). Berat total protein berkisar dari 12 hingga 120 kDa di mana sebagian besar berada di kisaran 39 hingga 75 kDa (Coronado-reyes *et al.*, 2020). Pada umumnya mikroalga sekitar



20% protein terikat pada dinding sel sebagai pembentuk struktur dan transportasi sel, 50% terletak di dalam sel sebagai enzim dan sisanya 30% disekresikan ke dalam media ekstraseluler yang terus menerus masuk dan keluar dari sel.

Kualitas nutrisi protein berkaitan dengan asam amino esensial dan non-esensialnya (Ru *et al.*, 2020). Protein merupakan kandungan paling tinggi pada *Chlorella vulgaris* yaitu sekitar 60%. Protein terletak di berbagai bagian sel yaitu di dinding sel, sitoplasma, dan kloroplas. *Chlorella vulgaris* juga memiliki beberapa jenis pigmen seperti *violaxanthin* dan  *$\beta$ carotene* dimana mengandung antioksidan yang tinggi (Yanuhar *et al.*, 2020).

Berikut beberapa hasil penelitian identifikasi asam amino pada *Chlorella vulgaris* pada Tabel 6.

**Tabel 6.** Perbandingan Profil Asam Amino *Chlorella vulgaris*

Asam Amino	Konsentrasi (g/100g)			
	Andreeva <i>et al.</i> , 2021	Kulkarni and Nikolov (300 kDa) 2018	Ursu <i>et al.</i> , 2014	Mohamed <i>et al.</i> , 2013
Aspartic acid	8.54	9.5	8.6	10.5
Threonine*	5.46	5.8	5.5	5.24
Serine	4.34	5.9	4.4	5.08
Glutamic acid	10.28	10.5	10.3	10.74
Glycine	7.14	10.1	7.0	5.1
Alanine	10.82	10.9	10.7	8.44
Valine*	6.89	7.0	6.7	6.44
Methionine*	2.52	2.1	2.6	1.5
Isoleucine	3.36	4.9	3.4	5.01
Leucine*	8.41	9.1	8.2	6.84
Tyrosine	4.34	2.8	4.4	5.2
Phenylalanine*	6.17	4.5	6.0	4.2
Histidin*	1.52	1.5	1.6	5.02
Lysine*	5.35	5.5	5.4	5.6
Arginine	7.33	4.9	7.4	8.2
Proline	5.08	4.9	5.0	6.4
NH <sub>4</sub>	-	-	1.3	6.4
Cysteine	1.47	-	1.3	-
Tryptophan	0.21	-	0.2	-

\*: Asam amino essensial

Di antara asam amino asam yang telah dikarakterisasi dalam kinetika pertumbuhan *Chlorella vulgaris* yaitu asam aspartat, treonin, serin, asam glutamat,



glisin, alanin, sistein, valin, metionin, isoleusin, leusin, tirosin, fenilalanin, histidin, lisin, arginin, triptofan, ornitin dan prolin, di mana asam glutamat adalah salah satu yang disintesis dengan kelimpahan terbesar diikuti oleh asam aspartat dengan konsentrasi 13,7 g/100 g protein dan 10,94 g/100 g protein masing-masing (Ursu *et al.*, 2014). Namun berbeda pada asam amino yang diidentifikasi oleh Mohamed *et al.* (2013) yang tidak ditemukan triptofan dan sistein. Sedangkan pada penelitian Kulkarni and Nikolov (2018), yang diidentifikasi dari *Chlorella vulgaris* dengan berat 300 kDa tidak didapatkan NH<sub>4</sub>, sistein, dan triptofan.

### Pigmen

Menurut Ru *et al.*, (2020), pigmen adalah senyawa memiliki warna yang bertanggung jawab dalam proses fotosintesis untuk penyerapan dan refleksi dari panjang gelombang tertentu dari cahaya tampak. Mikroalga umumnya dikenal karena produksi pigmen yang tinggi dan memiliki senyawa bioaktif seperti karotenoid, klorofil dan fikobiliprotein. Pigmen yang teridentifikasi untuk dibuktikan aktivitas antioksidannya umumnya menggunakan pelarut seperti; dimetilformamida, diklorometana, aseton, heksana dan etanol melalui metode seperti Soxhlet, ekstraksi dengan ultrasound dan dengan fluida superkritik. Di antara pigmen utama yang telah diidentifikasi dalam *Chlorella vulgaris* adalah:  $\beta$ -karoten, astaxanthin, canthaxanthin, lutein, klorofil a dan b, pheophytin a dan b dan violoxanthin (Coronado-reyes *et al.*, 2020). Berikut pigmen yang terdapat pada *Chlorella vulgaris* yang dijelaskan dalam kajian literatur oleh Saffi *et al.*, (2014) pada

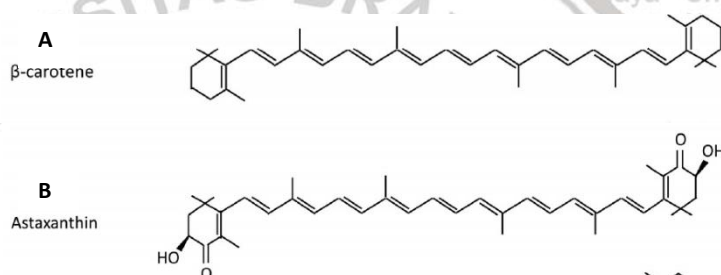
Tabel 7.

**Tabel 7.** Pigmen *Chlorella vulgaris*

Pigmen	$\mu\text{g/g}$ (dw)
$\beta$ -Carotene	7-12.000
Astaxanthin	550.000
Cantaxanthin	362.000
Lutein	52-3830
Chlorophyll-a	250-9630
Chlorophyll-b	72-5770

Pheophytin-a	2310-5640
Pheophytin-b	N/A
Violaxanthin	10-37

Menurut Safi *et al.*, (2014) pigmen yang paling melimpah pada *Chlorella vulgaris* adalah klorofil yang dapat mencapai 1-2% berat kering dan terletak di tilakoid. *Chlorella vulgaris* juga mengandung sejumlah besar karotenoid dengan fungsi sebagai pigmen yang menangkap cahaya dan mentransfernya ke dalam fotosistem. Beberapa pigmen bertindak sebagai fotoprotektor dengan melindungi molekul klorofil dari degradasi dan pemutihan selama paparan radiasi dan oksigen yang kuat.



**Gambar 6.** (A) Struktur dari  $\beta$ -karoten dan (B) Struktur dari Astaxanthin, kedua senyawa aktif ini memiliki fungsi meningkatkan kelangsungan hidup ikan (Chang and Xiong, 2020)

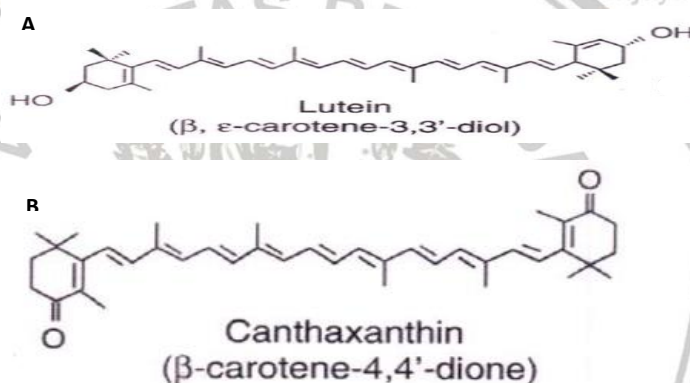
$\beta$ -karoten

Beta-karoten adalah salah satu karotenoid utama yang ada dalam *C. vulgaris* (Gille *et al.* 2016). Beta karoten yang dihasilkan oleh mikroalga dan tumbuhan lain digunakan sebagai pewarna makanan agen dan pro-vitamin A (retinol) pada pakan ternak dan akuakultur (Ahmad *et al.*, 2018). Suplemen makanan dari b-karoten meningkatkan kelangsungan hidup ikan nila merah (Arous *et al.*, 2014).

Astaxanthin



Astaxanthin adalah karotenoid dengan dua karbon asimetris terletak pada posisi 3 dan 3 dari cincin benzenoid pada kedua ujung molekul dan disebut sebagai super vitamin E karena aktivitas antioksidan alaminya (Yaakob *et al.*, 2014). Aktivitas antioksidan alaminya 10 kali lebih tinggi dari b-karoten dan 500 kali lebih besar dari a-tokoferol (Begum *et al.* 2016). Astaxanthin adalah karotenoid terkemuka dalam perbaikan kesehatan ikan yaitu dapat meningkatkan kelangsungan hidup, kinerja pertumbuhan, toleransi stres, fisiologi, dan ketahanan terhadap penyakit (Lim *et al.* 2018). Bioaktivitas astaxanthin berfungsi untuk perlindungan sinar UV dan aktivitas anti-inflamasi (Santosh *et al.*, 2016).



**Gambar 7.** (A) Struktur dari Lutein memiliki sifat antioksidan dan (B) Struktur dari Cantaxanthin sebagai vitamin dan meningkatkan kesehatan ikan (Dhankar *et al.*, 2012)

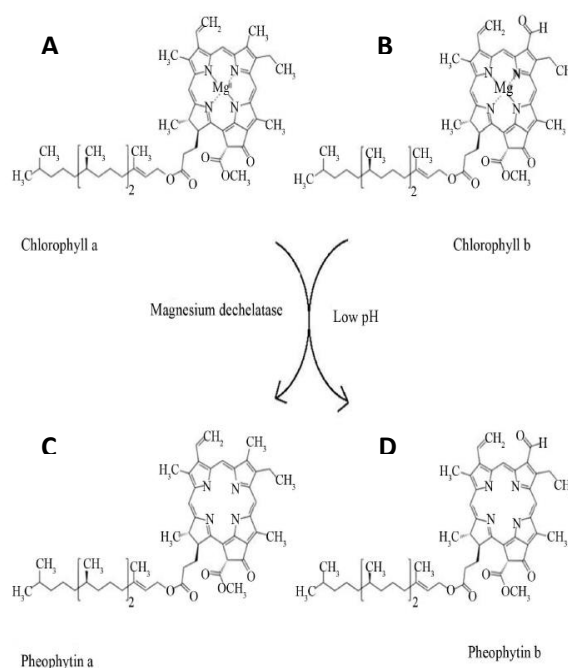
Lutein

Lutein adalah karotenoid penting yang ditemukan secara alami di alga.

Keberadaan lutein adalah yang paling melimpah kedua dengan sifat antioksidan yang tinggi. Lutein ditemukan di membran tilakoid dalam bentuk kompleks pemanenan cahaya pada alga dan tumbuhan berdaun hijau tua (Cai *et al.*, 2015). Lutein mampu berfungsi sebagai pewarna, aditif makanan/pakan dan penambah sistem kekebalan (Ahmad *et al.*, 2018).

Cantaxanthin

Canthaxanthin adalah salah satu karotenoid utama yang ada di *Chlorella vulgaris*. Pigmen ini diduga dapat digunakan sebagai vitamin untuk ikan dengan ditambahkan ke makanan ikan sekitar 10 mg per 1 kg pakan kering serta untuk meningkatkan kesehatan ikan. Canthaxanthin dilengkapi dalam pakan berbagai spesies ikan untuk meningkatkan pigmentasi. Kemampuan *Chlorella vulgaris* untuk menghasilkan biomassa mikroalga kaya akan pigmen alami ini perlu ditingkatkan supaya dapat memberikan banyak kegunaan (Ahmad *et al.*, 2018).



**Gambar 8.** (A) Struktur dari Klorofil-a, (B) Struktur dari Klorofil-a, (C) Struktur dari Feofitin-a, (D) Struktur dari Feofitin-b (Hsu *et al.*, 2013)

Feofitin

Feofitin secara biokimia mirip dengan klorofil tetapi kekurangan Mg<sup>2+</sup> ion; mereka dapat terbentuk setelah degradasi klorofil selama pertumbuhan sel mikroalga atau selama kondisi ekstraksi yang keras (Safi *et al.*, 2014). Feofitin dijelaskan oleh Hsu *et al.*, (2013), bahwa dapat bertindak sebagai antioksidan dan mengurangi radikal bebas.

Klorofil



Menurut Boy *et al.*, (2016), klorofil adalah kandungan warna hijau pada *Chlorella* yang terdapat jaringan *porphyrin*. Pembagian klorofil terdiri dari klorofil a, klorofil b, dan klorofil c.. Klorofil a ditemukan pada setiap tumbuhan hijau, alga serta Cyanobacteria. Sedangkan klorofil b hanya ditemukan pada tumbuhan dan alga hijau. Pigmen atau kandungan warna alami bersifat tidak stabil. Pigmen klorofil pada alga berpengaruh pada umur panen. Semakin bertambah umur alga maka bentuk anatomi dan kimianya akan berbeda

### Bahan Aktif

Menurut Masitha, *et al.*, (2019), senyawa dalam ekstrak *Chlorella vulgaris* mampu menghentikan adhesi patogen. Aktivitas antivirus ketika senyawa aktif mikroalga terhadap virus yang menyerupai partikel ketika diberikan pada ikan akan bermuatan positif dari glikoprotein virus. Kemudian proses penempelan virus pada sel dan senyawa aktif tersebut melawan menggunakan asam amino glikoprotein virus yang akhirnya dapat memblokir adsorpsi virus. Senyawa aktif dalam ekstrak *Chlorella vulgaris* dapat digunakan pula sebagai antiinflamasi pada ikan kerapu yang terinfeksi VNN yang ditunjukkan dengan heat shock protein expression response (HSP).

Penelitian Syed *et al.*, (2015), dilakukan untuk mengetahui kemampuan spesies *Chlorella vulgaris* dalam peranannya sebagai agen antimikroba. Efisiensi penghambatan pada mikroba ketika patogen menyerang disebabkan oleh adanya senyawa aktif biologis yang stabil. Senyawa bioaktif yang terdapat dalam *Chlorella vulgaris* berfungsi sebagai zat yang bermanfaat dan menciptakan efek penghambatan patogen berbahaya. Di sebagian besar mikroalga senyawa bioaktif terakumulasi dalam biomassa. Namun dalam beberapa perlakuan didapatkan dari hasil metabolit yang diekskresikan ke dalam media atau biasa disebut eksometabolit (Morais *et al.*, 2015). Berikut hasil uji fitokimia bahan aktif *Chlorella vulgaris* dari beberapa penelitian pada Tabel 8.

**Tabel 8.** Perbandingan Uji Fitokimia Bahan Aktif *Chlorella vulgaris*

Senyawa	Hasil Suhara et al., 2020	Abdel -karim et al., 2020	Masitha et al., 2019	Prabaka ran et al., 2018	Syed et al., 2015
Pelarut	Etanol	Etanol	Metanol	Metanol	Aseton, Etanol, Klorofom
Alkaloid	+	+	+	+	TA
Flavonoid	+	+	-	+	+
Saponin	-	+	-	TA	+
Tanin	+	-	+	+	+
Kuinon	-	TA	TA	TA	TA
Monoterpen/Seskuiterpe n	+	TA	TA	TA	TA
Steroid	+	-	TA	TA	TA
Fenol	TA	+	TA	+	+
Terpenoid	TA	-	+	+	+
Karbohidrat	TA	TA	TA	TA	+
Glikosida	TA	-	TA	+	+
Triterpenes	TA	TA	TA	+	TA

TA: tidak ada/tidak diskriming

Pada penelitian Suhara et al., (2020), analisis skrining fitokimia pada *Chlorella vulgaris* B mengandung flavonoid, tannin, alkaloid, monoterpenoid/seskuiterpenoid dan steroid yang ditunjukkan dengan hasil skrining positif. Senyawa flavonoid di dalam *Chlorella vulgaris* mempunyai potensi kuat sebagai antibakteri. Sedangkan monoterpena dan seskuiterpena dari komposisi minyak atsiri ini sering disebut memiliki fungsi sebagai antibakteri. Pada Penelitian Syed et al., (2015), mendapatkan hasil skrining fitokimia *Chlorella vulgaris* yaitu Flavonoid, Tanin, Senyawa Fenolik, Terpenoid, Glikosida, Saponin dan Karbohidrat dengan hasil positif dengan bantuan ekstrak etanol.

Fithriani et al., (2015), menjelaskan secara baik komposisi bahan aktif pada *Chlorella vulgaris* berikut ini

#### 1. Alkaloid



Terdapat senyawa alkaloid pada mikroalga *Chlorella* sp. dengan identifikasi terbentuk endapan berwarna jingga. Alkaloid merupakan senyawa yang bersifat semi polar dan digunakan sebagai agen anastesi serta banyak ditemukan pada tanaman obat.

#### 2. Flavonoid

Hasil positif flavonoid pada uji ditandai dengan adanya endapan warna merah, kuning atau jingga. Flavonoid merupakan molekul yang dimanfaatkan sel dalam perlindungan terhadap bahaya reaktif oksigen spesies. Potensi dari bahan ini yaitu memiliki aktivitas antioksidan, anti tumor, anti alergi dan anti inflamasi.

#### 3. Saponin

Saponin teridentifikasi sebagai senyawa bioaktif pada *Chlorella* sp. yang ditunjukkan dengan terbentuknya busa permanen. Pemanfaatannya sebagai obat-obatan digunakan dalam hiperkolesterolemia, hiperglikemia, antioksidan, antikanker, anti-inflamasi serta Saponin terlibat sebagai agen antibakteri bioaktif tanaman. Saponin juga memiliki sifat antijamur (Abdel-karim *et al.*, 2020).

#### 4. Triterpenoid

Keberadaan komponen triterpenoid ditandai dengan terbentuknya larutan berwarna merah kecoklatan. Ada tidaknya komponen ini dapat dipengaruhi oleh perbedaan tingkat kepolaran dari pelarut yang digunakan. Senyawa triterpenoid bersifat non polar yang dapat dijumpai pada tumbuhan yang berfungsi sebagai pelindung.

#### 5. Steroid

Steroid adalah bahan aktif yang termasuk non polar dan umumnya senyawa non polar akan tertarik oleh pelarut non polar. Senyawa steroid disini menampakkan hasil positif pada pelarut metanol. Pengaruh jenis pelarut

memiliki arti penting pada penarikan komponen senyawa bioaktif. Manfaat dari Steroid ini mempunyai kecenderungan sebagai sumber antibakteri dan antioksidan.

#### 6. Tanin

Tanin adalah senyawa polifenol dengan berat molekul besar dan terdiri dari gugus hidroksil dan karboksil. Senyawa tanin dapat menampilkan hasil uji pada perubahan warna menjadi hitam kecoklatan yang menunjukkan uji positif pada kelompok tanin. Tanin berfungsi sebagai antioksidan biologis dan memiliki sifat antibakteri melalui reaksi terhadap membran sel, inaktivasi enzim, dan destruksi atau inaktivasi fungsi materi genetik (Masitha *et al.*, 2019). Tanin umumnya dikaitkan dengan penyembuhan luka dan sifat anti-inflamasi (Syed *et al.*, 2015).

#### 7. Kuinon

Menurut Novianti *et al.*, (2019), bahan aktif kuinon umumnya didapatkan dalam bentuk glikosida. Letaknya pada vakuola sel dengan sifat mudah larut dengan pelarut polar. Komponen kuinon pada ekstrak *Chlorella vulgaris* memiliki reaksi positif dan terdeteksi kuat dengan terbentuknya filtrat berwarna kuning. Metabolit sekunder ekstrak *Chlorella vulgaris* terdeteksi kuat pada komponen kuinon yang berpotensi sebagai antioksidan. Manfaat kuinon yang lain yaitu digunakan sebagai bahan antikanker dan antioksidan.

#### 8. Terpenoid

Hasil uji terpenoid diamati dengan adanya endapan berwarna coklat jingga pada larutan uji. Terpenoid adalah siklik atau asiklik dan sering memiliki alkohol, aldehida, atau asam karboksilat. Tanaman yang mengandung senyawa terpenoid memiliki nilai ekologis karena berfungsi sebagai anti jamur, insektisida, anti predator, anti bakteri dan anti virus (Masitha *et al.*, 2019).

#### 9. Fenol



Secara umum senyawa fenol memiliki aktivitas fisik, kimia dan biologi yang spesifik sehingga bermanfaat sebagai obat. Fenolik juga bertanggung jawab atas tindakan antimikroba, anti-inflamasi, anti-virus, antikanker. Selain itu, senyawa fenolik bertindak sebagai antioksidan dengan cara mengkelat ion logam, mencegah pembentukan radikal dan meningkatkan sistem antioksidan endogen (Abdel-karim *et al.*, 2020).

#### 10. Glikosida

Timbulnya busa pada uji saponin menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan untuk membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya. Sedangkan keberadaan kuinon menurut Fithriani *et al.*, 2015 banyak ditemukan dalam bentuk glikosida.

#### 11. Karbohidrat

Karbohidrat digunakan dalam bidang rekayasa jaringan kulit, modulasi penyembuhan luka dan bahan makanan. Semua senyawa bioaktif esensial ini terdapat dalam sampel *Chlorella vulgaris* dan akan dimurnikan dan dapat dimanfaatkan sebagai suplemen makanan serta obat-obatan (Syed *et al.*, 2015).

#### 3.3.5 Pemanfaatan Protein Rekombinan *Chlorella vulgaris*

Mikroalga mereproduksi diri sendiri dengan fotosintesis untuk mengubah energi matahari menjadi energi kimia dan menyelesaikan seluruh siklus pertumbuhan setiap beberapa hari. Faktor selanjutnya mikroalga tumbuh hampir di berbagai habitat yang memerlukan sinar matahari dan beberapa nutrisi sederhana. Mikroalga memiliki produktivitas yang jauh lebih tinggi dibandingkan dengan tumbuhan yang memerlukan lebih besar luas lahan. *Chlorella* salah satu mikroalga yang dipelajari pada bioteknologi karena memiliki sumber nutrisi yang baik. Sehingga *Chlorella* menjadi mikroalga pertama yang dipertimbangkan untuk

budidaya massal dan diproduksi secara komersial. Biomassa *Chlorella* dapat digunakan untuk suplemen protein atau protein sel tunggal (Vieira *et al.*, 2020).

Protein pada *Chlorella vulgaris* dapat berguna memperbaiki sel-sel yang rusak, sebagai salah satu pembentuk membran sel, juga dapat menjadi sumber energi bagi ikan (Safia dan Mahyudin, 2016). Menurut Andriyani *et al.*, (2020) menjelaskan bahwa setiap ikan menghasilkan protein antigenik CP VNN yang dapat mengaktifkan respon imun. Respon imun yang berhasil diinduksi akan membentuk antibodi pada tubuh ikan sehingga antibodi mampu menetralkan virus tersebut pada ikan yang telah divaksinasi. Akibat netralisasi antibodi tersebut maka virus tidak berhasil menginfeksi ikan sehingga lebih bertahan lama daripada ikan yang tidak divaksinasi.

### 3.4 Adjuvant

Protein rekombinan dari *Chlorella vulgaris* diproduksi melalui salah satu proses yaitu mikroenkapsulasi, proses di mana partikel kecil atau tetesan cairan dibungkus atau dilapisi oleh bahan polimer untuk menghasilkan partikel kecil, yang disebut mikrokapsul atau mikrosfer. Terdapat beberapa metode mikroenkapsulasi berdasarkan ukuran partikel seperti *freeze drying*, *spray drying*, *cooling*, *fluid bed coating*, *coacervation*, dan *liposome entrapment* (Wati *et al.*, 2020). Kinerja mikrokapsul yang luar biasa sangat tergantung pada komponen bahan cangkang dan sifat inti bahan, yang dapat mempengaruhi efisiensi enkapsulasi, fluiditas, kelarutan, permeabilitas, pelepasan berkelanjutan, dan sifat inti lainnya (Li *et al.*, 2019).

Penggunaan bahan penyalut dalam mikroenkapsulasi umumnya ditambahkan bahan pembantu sebagai campuran vaksin yang memiliki peranan penting. Menurut Dalmo *et al.*, (2016), *adjuvant* adalah zat pembantu yang dapat meningkatkan respon pertahanan adaptif terhadap penggunaan vaksin serta



mampu untuk mencegah infeksi dan kematian ikan terhadap infeksi penyakit.

*Adjuvant* memiliki peran mengarahkan tipe respon adaptif terhadap patogen tertentu sehingga dapat diartikan pula sebagai sekelompok senyawa heterogen struktural dengan memodulasi imunogenisitas intrinsik antigen. Menurut Tafalla *et al.*, (2014), *adjuvant* berasal dari istilah *adjuvare* yang memiliki arti “membantu”.

Adjuvan memiliki beberapa fungsi sebagai berikut:

1. Meningkatkan respon imun terhadap antigen sementara pada saat yang sama memperpanjang durasi respons imun;
2. Memodulasi luasnya, afinitas dan spesifisitas respon antibodi;
3. Merangsang ekspresi respons imun yang dimediasi seluler yang kuat;
4. Meningkatkan imunogenisitas untuk antigen lemah dan serokonversi untuk penanggap rendah;
5. Mempromosikan induksi kekebalan mukosa;
6. Memfasilitasi pengurangan dosis antigen dan mengurangi kebutuhan vaksinasi booster;
7. Mengurangi persaingan antigen dalam vaksin multivalen

Ajuvan adalah komponen penting yang meningkatkan kemanjuran vaksin dan memperpanjang perlindungan (Adams *et al.*, 2016). Vaksin ikan yang tidak aktif sering dikombinasikan dengan *adjuvant* termasuk kitosan oligosakarida, astragalus polisakarida, aluminium hidroksida, liposom, dan bahan pembantu berbasis minyak (Li *et al.*, 2020).

### 3.5.1 CFA (Complete Freund's Adjuvant)

*Complete Freund's Adjuvant* (CFA) adalah emulsi minyak dalam mineral (emulsi W/O) dengan mikobakteri yang dibunuh dengan kondisi panas dan *Incomplete Freund's Adjuvant* (IFA) tanpa mikobakteri. Ajuvan telah digunakan secara luas dalam imunologi eksperimental karena memiliki pengaruh yang tinggi



dan bahan pembantu Freund yang tidak lengkap telah digunakan selama beberapa dekade dalam praktik vaksinasi kedokteran hewan (Linbald, 2008).

*Complete Freund's Adjuvant* pertama kali dijelaskan pada tahun 1935 yang digunakan selama bertahun-tahun dengan eksperimen vaksin pada percobaan hewan. CFA adalah *adjuvant* minyak klasik, yang, dengan bantuan zat pengemulsi, membentuk air dalam minyak emulsi dengan antigen dan efektif dalam memunculkan respon imun yang kuat baik pada humoral maupun seluler yang secara umum belum ada di bahan pembantu lainnya. Namun, penggunaan

CFA sering mengakibatkan berbagai efek samping yang menyebabkan stres seperti terbentuknya granuloma, nekrosis, dan gangguan jaringan. Sebagai aktivator sel yang efektif CFA dapat menginduksi seluler dan kekebalan humoral meski perlu dibatasi karena memperhatikan efek sampingnya (Kwon *et al.*, 2013).

*Complete Freund's Adjuvant* memiliki kemampuan meningkatkan kuantitas imunoglobulin secara bertahap hingga signifikan. Cara pemberian *adjuvant* dengan obat/vaksin juga perlu diperhatikan sebagai pengaruh terhadap efikasinya (Gudding and Goodrich 2014).

### 3.5.2 IFA (*Freund's Incomplete Adjuvant*)

Menurut Ramos-Espinoza *et al.*, (2020), ajuvan meningkatkan respon imun adaptif dan dapat diklasifikasikan sebagai fasilitator sinyal 1 dan sinyal 2. Emulsi minyak juga dikenal sebagai fasilitator sinyal 1 yang paling umum digunakan.

Emulsi minyak terdiri dari beberapa *adjuvant* yaitu *Complete Freund's Adjuvant* (CFA), *Incomplete Freund's Adjuvant* (IFA), dan Montanide. *Incomplete Freund's Adjuvant* (IFA) adalah emulsi air-minyak (W/O) yang telah terbukti meningkatkan kemanjuran vaksin dengan merangsang respons antibodi yang lebih tinggi baik humoral maupun mukosa ketika digunakan dalam vaksin tidak aktif terhadap *S. agalactiae* dimasukkan ke dalam pakan ikan nila merah, *Oreochromis sp.* (Firdaus-



nawawi, 2013), vaksin bentuk polivalen tidak aktif terhadap *Edwardsiella tarda* dan *Vibrio anguillarum* untuk ikan flounder jepang. Persentase kelangsungan hidup ikan halibut atau *Paralichthys olivaceus* pada penelitian Zhang *et al.*, (2017) ini membuktikan nilai yang relatif tinggi yaitu masing-masing 70,9% dan 67,4%, dan pada penelitian Sun *et al.*, (2011), dijelaskan penggunaan vaksin subunit terhadap *Streptococcus agalactiae* yang ditambah dengan FIA atau Montanide didapatkan tingkat kelangsungan hidup tinggi yaitu masing-masing 76,7% dan 74,4%.

### 3.5.3 Kitosan

Menurut Barclay *et al.*, (2019), kitin merupakan polisakarida yang terdapat pada dinding sel jamur dan ditemukan pada cangkang arthropoda seperti krustasea. Kitin terdiri dari rantai linier unit 2-acetaylamino-2-deoxy- $\beta$ -D-glucopyranose yang dihubungkan melalui ikatan -1,4. Setelah melalui proses N-deasetilasi kitin membentuk kitosan menjadi turunan yang tidak beracun, biokompatibel, dan mampu terurai secara enzimatis yang mengandung gugus amino. Gugus amino ini yang memberikan kelarutan jika berada di larutan agak asam pada polimer, berguna untuk modifikasi kimia, dan interaksi elektrostatis dalam sistem penghantaran obat. Muatan positif kitosan dapat meningkatkan adhesi mikrosfer kitosan pada lendir, dan kemudian membuka persimpangan ketat sel mukosa dan mempromosikan obat atau mikrosfer itu sendiri untuk diserap dari saluran pencernaan (GI) saluran (Ma, 2014)

Kitosan polisakarida linier adalah kopolimer acak D-glukosamin dan N-asetil-Dglukosamin dihubungkan oleh ikatan -(1 $\rightarrow$ 4). Sedangkan unit monomer utama kitosan adalah D-glukosamin. Kitosan merupakan produk deasetilasi parsial kitin biopolimer, yang merupakan polisakarida yang paling umum di alam, setelah selulosa (Lei and Langrish, 2021). Kitosan bersifat tidak beracun, biokompatibel dan biodegradable. Biodegradabilitas terdiri dari transformasi kitosan menjadi

polisakarida kecil yang diekskresikan atau diasimilasi oleh organisme. Saat ini kitosan memiliki banyak aplikasi termasuk penggunaannya dalam pengiriman obat-obatan, seperti agen antimikroba dan vaksin terhadap penyakit (Angulo *et al.*, 2020). Kitosan bersifat mukoadhesif sehingga mampu digunakan sebagai pengantar yang memudahkan penetrasi molekul besar memasuki permukaan mukosa. Namun, sitotoksitasnya ditemukan bervariasi di air tawar dan air asin dimana semakin rendah salinitas, semakin tinggi sitotoksitas. Maka dari itu, kitosan memiliki potensi untuk dikembangkan lebih lanjut dalam bidang budidaya (Ahmed *et al.*, 2019). Berikut perbandingan *adjuvant* CFA (*Complete Freund's Adjuvant*)/IFA (*Incomplete Freund's Adjuvant*) dan Kitosan

**Tabel 9.** Perbandingan *Adjuvant*\_CFA, IFA, dan Kitosan

<i>Adjuvant</i>	Gambaran umum	Keuntungan	Kerugian	Referensi
FCA	w/o jenis emulsi adjuvant menggunakan minyak parafin dicampur dengan membunuh mikobakteri	Respon imun yang kuat	Sangat beracun	Sivakumar <i>et al.</i> , 2011
FIA	w/o jenis emulsi adjuvant menggunakan minyak parafin dicampur tanpa dibunuh mikobakteri	Efek samping yang lebih rendah daripada FCA	1. imunomodulator yang buruk 2. Efek iritasi lokal dapat menyebabkan granuloma dan pembentukan kista	Efek Sivakumar <i>et al.</i> , 2011
Kitosan	Kitosan merupakan produk deasetilasi parsial kitin biopolimer,	1. Tidak beracun, biokompatibel, biodegradasi	5. Reproduksi yang buruk. 6. Tidak baik pada	Sanina <i>et al.</i> , 2019



yang merupakan polisakarida yang paling umum di alam, setelah selulosa (Lei and Langrish, 2021).  
 ble, non- alergi.  
 kelarutan di atas pH 6.  
 2. Mukosa delivery.  
 3. Pelepasan antigen terkontrol  
 4. Administrasi mukosa menghasilkan antibodi dan respon sel T yang baik

### 3.5 Penanggulangan Ikan Kerapu Cantang (*Epinephelus fuscoguttatus-lanceolatus*) yang terinfeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN)

Penyakit pada ikan dapat disebabkan oleh tiga faktor yaitu lingkungan, inang (ikan) dan patogen (Rahmawanti *et al.*, 2021). Lingkungan tempat hidup ikan dengan kondisi yang tidak diperhatikan dapat menyebabkan stres sehingga menurunkan sistem imun ikan tersebut. Stres tersebut akan muncul ketika ketidakseimbangan interaksi terjadi antara ikan (biotik) dengan lingkungannya (abiotik). Sistem imun yang tidak baik akibat stres dapat dengan mudah mengizinkan patogen masuk ke dalam tubuh ikan. Maka dengan melakukan pengelolaan kualitas air, manajemen pakan adalah hal penting untuk dapat menjaga lingkungan dalam keadaan baik dan mencegah ikan mengalami stres hingga terserang patogen (Kismiyati *et al.*, 2012)

Kerentanan ikan kerapu mengalami kematian dalam daur hidupnya terjadi pada periode kritis yaitu saat stadia larva. Stadia larva saat ikan berumur 1-20 hari, jika stadia larva tidak bisa dilewati maka akan terjadi kematian. Faktornya dapat berasal dari fisiologis larva tersebut yang berkaitan dengan perubahan jenis pakan. Oleh karena itu pada periode kritis pakan larva sangat perlu diperhatikan supaya mendapatkan nutrisi yang lengkap untuk proses pertumbuhannya dan



mencegah supaya tidak mudah terserang penyakit (Melianawati *et al.*, 2017).

Makanan yang disukai oleh ikan kerapu adalah yang berasal dari ikan-ikan kecil, ikan rucah sebagaimana sesuai dengan sifatnya yaitu karnivora. Namun makanan tersebut lebih mudah terpapar oleh virus yang berasal dari pakan atau ikan rucah yang membawa patogen virus atau terinfeksi melalui proses transmisi vertikal dari induk. Maka penambahan atau kombinasi pakan tambahan dapat mengurangi resiko ikan terinfeksi virus dari sumber makanannya (Novriadi *et al.*, 2015).

Pencegahan merupakan upaya awal supaya ikan terlindungi dari patogen.

Pencegahan dapat dilakukan sebelum ikan tertular virus dengan berbagai cara seperti menghindari ikan yang masih sehat dengan yang terinfeksi. Selanjutnya ditambahkan oleh Ismi *et al.*, (2013), menjelaskan beberapa cara pemeliharaan yang baik untuk pengelolaan kesehatan ikan kerapu yaitu sebagai berikut:

1. Mengurangi stres terlebih saat penyortiran
2. Memberikan pakan berkualitas baik dan bernutrisi sesuai kebutuhan pertumbuhan
3. Mengontrol kualitas air sesuai baku mutu ikan
4. Menyortir ikan yang sakit atau mati sesegera mungkin untuk dipindahkan dari yang sehat
5. Menjaga sanitasi dan kebersihan pada lingkungan pemeliharaan

Apabila pencegahan belum berhasil maka penanganan yang dapat dilakukan yaitu dengan pemberian imunostimulan dan vaksinasi. Imunostimulan merupakan suatu materi biologis atau zat sintetis yang dapat meningkatkan pertahanan non spesifik serta merangsang organ pembentuk antibodi dalam tubuh untuk bekerja secara maksimal (Novita *et al.*, 2020). Imunostimulan yang diberikan dapat berupa protein yaitu protein imunogenik. Protein imunogenik berfungsi untuk meningkatkan fungsi pada sistem imun kompleks. Kemudian sistem imun memproteksi tubuh ikan yang telah di imunisasi terhadap antigen yang bersifat



1. Menggunakan cara suntik sehingga (I:C) tidak berada di jaringan ikan karena molekul RNA tidak stabil. Hal ini berarti ikan masih bisa memanfaatkannya sebagai sumber makanan.
2. Kekebalan tingkat tinggi
3. Teknologi DNA rekombinan tidak diperlukan karena dapat menekan biaya untuk pengembangan vaksin.

Proses yang dilakukan memerlukan biaya tinggi dan rumit sehingga dalam skala besar membatasi pembudidaya. Pemanfaatan mikroalga selain sebagai sumber nutrisi dalam pakan juga dapat berperan sebagai vaksin (Ma *et al.*, 2020).

Vaksin adalah formulasi yang mengandung non-patogen dan terkadang tidak menular varian dari infeksi atau menular agen patogen (Heegard *et al.*, 2011).

Vaksinasi adalah salah satu metode penanggulangan yang paling efektif dalam mencegah penyakit virus pada ikan. Namun terdapat beberapa tantangan yang harus dihadapi dalam penggunaan vaksin yaitu produksi vaksin harus skala besar supaya dapat bereplikasi dan biaya yang tinggi. Oleh karena itu, vaksin adalah obat yang banyak diminati untuk dipelajari dan dikembangkan supaya dapat mencegah dan mengobati infeksi VNN (Lin *et al.*, 2016). Menurut Makesh *et al.*, (2017), sifat ideal dari vaksin virus yaitu



1. Vaksin harus aman untuk inang, pemberi vaksin dan konsumen tanpa vaksin menyebabkan reaksi merugikan atau tanda vaksin pada inang.
2. Vaksin harus menghasilkan kekebalan yang tahan lama, idealnya sampai produksi siklus ikan.
3. Vaksin harus mampu menginduksi sel, humoral dan mukosa kekebalan.
4. Vaksin harus 100% efektif melawan semua strain dan serotipe virus patogen dalam berbagai jenis inang.
5. Virus yang ada dalam vaksin seharusnya tidak kembali menjadi virulensi.
6. Vaksin harus mudah diatur.
7. Vaksin harus ekonomis.
8. Vaksin harus memiliki umur simpan yang lama.
9. Vaksin tidak boleh menimbulkan masalah etika dalam perizinan.

Vaksinasi adalah cara pencegahan penyakit dengan meningkatkan sistem kekebalan spesifik pada inang yang terinfeksi patogen (Nuryati *et al.*, 2015).

Meskipun *adjuvant* sangat efektif dalam mengaktifkan respon imun melawan patogen terdapat efek samping yang berbeda. Salah satu faktornya yaitu metode dalam pemberian vaksin yaitu oral, perendaman, dan injeksi. Menurut Ji, *et al.*, (2015), vaksinasi dengan suntikan termasuk yang paling ideal dan efektif untuk pengiriman vaksin dengan perlindungan sejauh ini paling efektif dan tahan lama.

Produksi vaksin suntik umumnya dengan formulasi *adjuvant* minyak/air (FCA atau FIA) yang mengakibatkan efek samping seperti munculnya granuloma, lengket antara organ dan dinding peritoneum, lesi pada bekas tempat suntikan, nafsu makan dan pertumbuhan berkurang. Kerugian dari vaksinasi dengan cara perendaman adalah jumlah vaksin yang dibutuhkan banyak, kesulitan untuk mengukur efisiensi penyerapan dan degradasi senyawa dalam air. Vaksin oral memiliki keuntungan kemungkinan stres kecil dan mudah diberikan pada sejumlah besar ikan. Namun kekurangannya adalah tidak mudah dalam menentukan dosis



antigen yang mampu diterima, harus mengetahui ikan bersifat lambung atau agastrik, jika antigen utuh maka harus melewati sistem pencernaan di segmen kedua usus belakang dimana terdapat tempat antigen diserap.

### 3.7 Penggunaan *Adjuvant* sebagai Bahan Pembantu Dalam Mikroenkapsulasi terhadap Respon Imun Ikan Kerapu Cantang (*E. fuscoguttatus-lanceolatus*) yang terinfeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN)

Menurut Jihan dan Tim PUPT, (2021), pemberian vaksin rekombinan *Chlorella vulgaris* yang ditambahkan *adjuvant Complete Freund's Adjuvant* (CFA)/*Incomplete Freund's Adjuvant* (IFA) pada ikan Kerapu Cantang (*E. fuscoguttatus-lanceolatus*) yang terinfeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN) menunjukkan keberhasilan. CFA/IFA memberikan pengaruh baik dimana dapat dilihat dari titer tertinggi pada sel antibodi yang terlabel IgM antifish. Menurut Abas, (2020), respon igm pada ikan akan menunjukkan titer antibodi pada tubung inang. Respon igm yang terukur bisa menggambarkan sel sel imun, seperti sitokin, interleukin, dan klaster diferensiasi sel. Titer antibodi tertinggi menunjukkan pada uji respon NF- $\kappa$ B yaitu 1/512 dan pada IFN- $\gamma$  1/512. Pemberian vaksin menyebabkan peningkatan antibodi yang ditunjukkan pada titer tertinggi. Sehingga respon imun NF- $\kappa$ B dan IFN- $\gamma$  mengalami penurunan. Respon imun NF- $\kappa$ B dan IFN- $\gamma$  memiliki sifat proinflamasi ketika terjadi infeksi pada sel.

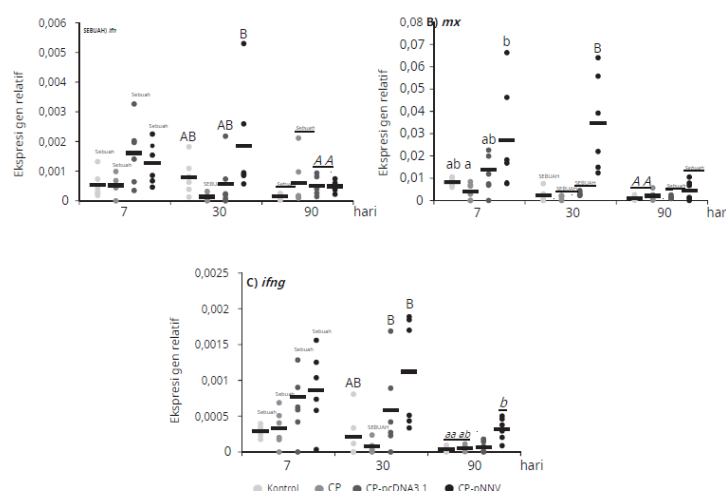
Pada penelitian Kuo *et al.*, (2016), bahwa teknik nano-enkapsulasi ini dapat melindungi IFN dari kerusakan pada saluran pencernaan ikan kerapu dan menjalankan fungsinya ketika diserap ke dalam sel. Sampel yang diperoleh dinyatakan sebagai PLGA-gIFN. Karena NP dapat didekati dengan mudah menggunakan sonikasi, produk untuk pencegahan dan pengobatan penyakit pada benih ikan. menggunakan ultrasonikasi untuk mengenkapsulasi ikan kerapu IFN (gIFN) dengan menggunakan poli(asam laktat-coglikolat) (PLGA) yang

dimodifikasi kitosan sebagai pembawa. Berikut hasil dari penelitian Kuo *et al.*, (2016) pada Gambar 9.

Administration route	Treatments	NNV infection	Mortality (%)	RPS
IP	Control (a)	IP	89.66	–
IP	0.05 $\mu$ g gIFN/fish	IP	33.33	62.82
IP	0.10 $\mu$ g gIFN/fish	IP	16.67	81.41
Oral	Control (b)	IP	87.50	–
Oral	0.05 $\mu$ g gIFN/fish	IP	57.69	34.07
Oral	0.10 $\mu$ g gIFN/fish	IP	34.48	60.59
Oral (NP)	Control (c)	IP	90.00	–
Oral (NP)	0.05 $\mu$ g gIFN/fish	IP	76.67	12.38
Oral (NP)	0.10 $\mu$ g gIFN/fish	IP	46.67	46.67

**Gambar 9.** Hasil Penggunaan *Adjuvant* Modifikasi Kitosan (PLGA) (Kuo *et al.*, 2016)

Sedangkan penelitian Valero, *et al.*, (2016), memberikan penjelasan berbeda dikarenakan gagalnya dalam menguji IgM. Namun penggunaan kitosan dalam *adjuvant* disebutkan baik dalam pengantaran vaksin DNA. Kemudian setelah 3 bulan kelangsungan hidup relatif sebesar 45%. Vaksin DNA yang dienkapsulasi kitosan terhadap NNV yang sebagian melindungi ikan european seabass dengan mengatur transkripsi gen yang terkait dengan CMC dan IFN.



**Gambar 10.** Tingkat Ekspresi Gen Tipe 1 IFN dan MX (Valero *et al.*, 2016)



Analisis ekspresi gen yang terkait dengan tipe I (ifn dan mx) dan II (jika) tanggapan IFN- $\gamma$ . Jadi, pada kelompok CP-pNNV, transkripsi sangat berarti tidak dapat diregulasi pada hari ke 30 dan mx pada hari ke 7 dan 30. Tingkat ekspresi dari IFN- $\gamma$  gen itu signifikanfi tidak dapat diregulasi pada kelompok CP-pNNV setelah 30 dan 90 hari vaksinasi. Namun, kelompok CP-pcDNA menunjukkan tingkat ekspresi bila dibandingkan dengan kelompok CP atau kontrol (Valero *et al.*, 2016).

**Tabel 10.** Perbandingan respon imun terhadap *adjuvant* CFA/IFA dan Kitosan

<i>Adjuvant</i>	Spesies	Virus	Respon Imun	Referensi
CFA/IFA	Ikan kerapu cantang	VNN	NF- $\kappa$ B, IFN- $\gamma$	Data Payung Research PTUPT 2021
Kitosan	Ikan Kerapu	VNN	IFN- $\gamma$	Kuo <i>et al.</i> , 2016
Kitosan	<i>European Seabass</i>	VNN	IFN- $\gamma$	Valero <i>et al.</i> , 2016

Dari perbandingan penelitian tersebut didapatkan informasi bahwa *adjuvant* CFA/IFA dan kitosan merupakan bahan pembantu yang mampu meningkatkan respon imun ikan kerapu dilihat dari respon imun NF-  $\kappa$ B dan IFN- $\gamma$ . Penggunaan *adjuvant* dipengaruhi oleh jenis vaksin, teknik pemberian vaksin, dan kondisi biologis ikan serta pengaruh lingkungannya. Sehingga dalam penelitian Valero *et al.*, (2016) didapatkan hasil dimana IFN- $\gamma$  tidak bisa diuji. Sedangkan pada penelitian Kuo *et al.*,(2016), dengan *adjuvant* nanopartikel kitosan yang dimodifikasi (PLGA) mendapatkan hasil lebih baik daripada yang tidak dienkapsulasi.

## BAB 4 PENUTUP

### 4.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil Kajian Literatur yang telah dilakukan maka dapat diperoleh kesimpulan bahwa pada ikan kerapu cantang (*E. fuscoguttatus-lanceolatus*) sehat dengan perlakuan vaksin rekombinan *Chlorella vulgaris* dengan dienkapsulasi *adjuvant* CFA (*Complete Freund's Adjuvant*)/IFA (*Incomplete Freund's Adjuvant*) dan Kitosan memiliki hasil yang cukup baik dengan melihat respon imun NF- $\kappa$ B dan IFN- $\gamma$  dari perbandingan data dengan kriteria ikan kerapu yang terinfeksi VNN dengan pemberian *adjuvant* kitosan

### 4.2 Saran

Disarankan untuk sumber pustaka terkait penggunaan *adjuvant* CFA (*Complete Freund's Adjuvant*)/IFA (*Incomplete Freund's Adjuvant*) dan Kitosan pada ikan yang terinfeksi virus dapat ditambahkan lebih banyak untuk mendukung hasil kajian literatur lebih baik lagi.



## DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Karim, O. H., Gheda, S. F., Ismail, G. A., & Abo-Shady, A. M. (2020). Phytochemical Screening and Antioxidant Activity Of *Chlorella vulgaris*. *Delta Journal Of Science*, **41**(1), 81-91.
- Adams, A. (2016). Progress, challenges and opportunities in fish vaccine development. *Fish & Shellfish Immunology*, **90**, 210-214. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.04.066>
- Adhisurya, S., Hamanti, F. T., & Nurhuda, A. (2019). Kesesuaian Perairan Untuk Budidaya Ikan Kerapu di Perairan Konservasi dan Wisata Nusa Penida, Bali. Seminar Nasional Geografi III Program studi pascasarjana geografi, fakultas geografi, UGM. 328-335
- Ahmad, M. T., Shariff, M., Md. Yusoff, F., Goh, Y. M., & Banerjee, S. (2018). Applications of Microalga *Chlorella vulgaris* in Aquaculture. *Reviews in Aquaculture*. doi:10.1111/raq.12320
- Ahmed, F., Soliman, F. M., Adly, M. A., Soliman, H. A., El-Matbouli, M., & Saleh, M. (2019). Recent progress in biomedical applications of chitosan and its nanocomposites in aquaculture: A review. *Research in Veterinary Science*, **126**, 68-82.
- Akbar, S., Marsoedi, M., Soemarno, S., & Kusnendar, E. (2012). Pengaruh Pemberian Pakan yang Berbeda Terhadap Pertumbuhan Ikan Kerapu Macan (*Ephinephelus fuscoguttatus*) pada Fase Pendederan di Keramba Jaring Apung (KJA). *Teknologi Pangan: Media Informasi dan Komunikasi Ilmiah Teknologi Pertanian*, **4**(1), 93-101. <https://doi.org/10.35891/tp.v4i1.492>
- Amri, I.A., Qosimah, D., Nugroho, W. (2019). *Pengantar Virologi Veteriner*. UB Press.
- Andreeva, A., Budenkova, E., Babich, O., Sukhikh, S., Ulrikh, E., Ivanova, S., ... & Dolganyuk, V. (2021). Production, Purification, and Study Of The Amino Acid Composition of Microalgae Proteins. *Molecules*, **26**(9), 2767. <https://doi.org/10.3390/Molecules26092767>
- Andriyani, W. M., Murtini, S., & Alimuddin, A. (2020). Effication of Viral Nervous Necrosis DNA as Vaccines for *Cromileptes altivelis*. *Indonesian Journal of Tropical Aquatic*, **3**(2), 78-86. <https://doi.org/10.22219/ijota.v3i2.13891>
- Andriyanto, W., & Marzuqi, M. Hubungan perkembangan morfologi dengan organ pencernaan larva kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) turunan ke-3 (F-3). *Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada*, **14**(1), 46-56.
- Anggraini, D. R., Damai, A. A., & Hasani, Q. (2018). Analisis Kesesuaian Perairan untuk Budidaya Ikan Kerapu Bebek (*Cromileptes altivelis*) di Perairan Pulau Tegal Teluk Lampung. *e-Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*, **6**(2), 719-728. <https://doi.org/10.23960/jrtbp.v6i2.p719-728>



Angulo, C., Tello-Olea, M., Reyes-Becerril, M., Monreal-Escalante, E., Hernández-Adame, L., Angulo, M., & Mazon-Suastegui, J. M. (2021). Developing oral nanovaccines for fish: a modern trend to fight infectious diseases. *Reviews in Aquaculture*, **13**(3), 1172-1192.

Arguelles, E. D. (2019). Morphotaxonomic Study of Algal Epiphytes from *Ipomoea aquatica* Forssk. (*Convolvulaceae*) Found in Laguna de Bay (Philippines). *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*, **42**(2), 817-832.

Arif, D., & Regan, Y. 2020. Studi Pembesaran Ikan Kerapu Bebek (*Chromileptes altivelis*) dalam Keramba Jaring Apung di Balai Perikanan Budidaya Laut (BPBL) Ambon. *Jurnal Salamata*, **2**(1), 23-27

Ariff, N., Abdullah, A., Azmai, M. N. A., Musa, N., & Zainathan, S. C. (2019). Risk Factors Associated with *Viral Nervous Necrosis* in Hybrid Groupers in Malaysia and The High Similarity of Its Causative Agent Nervous Necrosis Virus to Reassortant Red-Spotted Grouper Nervous Necrosis Virus/Striped Jack Nervous Necrosis Virus Strains. *Veterinary world*, **12**(8), 1273-1284. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2019.1273-1284>

Arous, W. H., El-Bermawi, N. M., Shaltout, O. E., & Essa, M. A. (2014). Effect of adding different carotenoid sources on growth performance, pigmentation, stress response and quality in red tilapia (*Oreochromis Spp*). *Middle East Journal of Applied Sciences*, **4**(4), 988-999.

Assefa, A., & Abunna, F. (2018). Maintenance of fish health in aquaculture: review of epidemiological approaches for prevention and control of infectious disease of fish. *Veterinary Medicine International*, <https://doi.org/10.1155/2018/5432497>

Bandín, I., & Souto, S. (2020). Betanodavirus and VER Disease: A 30-Year Research Review. *Pathogens*, **9**(2), 1-49. <https://doi.org/10.3390/pathogens9020106>

Barclay, Thomas G. Candace Minhthu Daya, Nikolai Petrovskyb,c, & Sanjay Garga. (2019). Review of polysaccharide particle-based functional drug delivery. *Carbohydr Polym.* **01**(221: 94–112). doi:10.1016/j.carbpol.2019.05.067.

Begum H, Yusoff Fmd, Banerjee S, Khatoon H, & Shariff M (2016), Availability And Utilisation Of Pigments From Microalgae. *Critical Reviews In Food Science And Nutrition*, **56**: 2209–2222.

Bøgwald, J., & Dalmo, R. A. (2019). Review on immersion vaccines for fish: An update 2019. *Brazilian Journal of Microorganisms*, **7**(12), 627. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7120627>

Borgogna, M., Bellich, B., & Cesàro, A. (2011). Marine polysaccharides in microencapsulation and application to aquaculture: "from sea to sea". *Marine drugs*, **9**(12), 2572-2604. <https://doi.org/10.3390/md9122572>



Boy, F., Ma'ruf, W. F., & Sumardianto, S. (2016). Pengaruh Umur Panen dan Lama Penyimpanan Mikroalga *Chlorella* sp. Terhadap Kestabilan Klorofil Setelah Fiksasi Mgco3. *Jurnal Pengolahan Dan Bioteknologi Hasil Perikanan*, 5(2), 10-15.

Cahyono, E. A., Sutomo, N., & Hartono, A. (2019). Literatur Review; Panduan Penulisan dan Penyusunan. *Jurnal Keperawatan*, 12(2), 12-12.

Cai X, Huang Q, & Wang S. (2015), Isolation of A Novel Lutein-Protein Complex From *Chlorella vulgaris* and Its Functional Properties. *Food & Function* 6: 1893–1899.

Cempaka, A. A. (2019). Literature Review: Pengaruh Cognitive Behaviour Therapy Terhadap Depresi Pada Remaja. *Jurnal Ners LENTERA*, 7(2), 85-97.

Chang, M. X., & Xiong, F. (2020). Astaxanthin And Its Effects In Inflammatory Responses And Inflammation-Associated Diseases: Recent Advances And Future Directions. *Molecules*, 25(22), 5342. Doi:10.3390/Molecules25225342

Cho, S. Y., Kim, H. J., Lan, N. T., Han, H. J., Lee, D. C., Hwang, J. Y., ... & Kim, H. J. (2017). Oral vaccination through voluntary consumption of the convict grouper *Epinephelus septemfasciatus* with yeast producing the capsid protein of red-spotted grouper nervous necrosis virus. *Veterinary microbiology*, 204, 159-164. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2017.04.022>

Coronado-Reyes, J. A., Salazar-Torres, J. A., Juárez-Campos, B., & González-Hernández, J. C. (2020). *Chlorella vulgaris*, A Microalgae Important To Be Used In Biotechnology: A Review. *Food Science And Technology*. <https://doi.org/10.1590/Fst.37320>

Dadar, M., Dhama, K., Vakharia, V. N., Hoseinifar, S. H., Karthik, K., Tiwari, R., ... & Joshi, S. K. (2017). Advances in aquaculture vaccines against fish pathogens: global status and current trends. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 25(3), 184-217. <https://doi.org/10.1080/23308249.2016.1261277>

Daliry, S., Hallajisani, A., Mohammadi, R. J., Nouri, H., & Golzary, A. (2017). Investigation of Optimal Condition for *Chlorella vulgaris* Microalgae Growth. *Global J. Environ*, 3(2), 217-230. 10.22034/gjesm.2017.03.02.010

Dalmo, R., J. Bøgwald, and C. Tafalla. (2016). *Adjuvants and Delivery Methods: Current*. A. Adams (ed.), *Fish Vaccines*, (pp. 75-103).

De Morais, M. G., Vaz, B. D. S., De Morais, E. G., & Costa, J. A. V. (2015). Biologically Active Metabolites Synthesized By Microalgae. *Biomed Research International*, 1-15. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/835761>

Dhankhar, J., Kadian, S. S., & Sharma, A. (2012). Astaxanthin: A Potential Carotenoid. *International Journal Of Pharmaceutical Sciences And Research*, 3(5), 1246.



Dhar, A. K., Manna, S. K., & Allnutt, F. T. (2014). Viral vaccines for farmed finfish. *Virusdisease*, **25**(1), 1-17. <https://doi.org/10.1007/s13337-013-0186-4>

Doan, Q. K., Vandeputte, M., Chatain, B., Morin, T., & Allal, F. (2017). Viral Encephalopathy And Retinopathy In Aquaculture: A Review. *Journal of fish diseases*, **40**(5), 717-742. <https://doi.org/10.1111/jfd.12541>

Dody, S., and D.L. Rae. 2016. Laju pertumbuhan ikan kerapu bebek *Cromileptes altivelis* yang dipelihara dalam keramba jaring apung. *Oseanologi dan Limnologi di Indonesia*, **1** (1): 11-17.

Embregts, C. W., & Forlenza, M. (2016). Oral vaccination of fish: Lessons from humans and veterinary species. *Developmental & Comparative Immunology*, **64**, 118-137. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2016.03.024>

Eshmat, N. M. E., & A. Manan. (2019). Analisis Kondisi Kualitas Air Pada Budidaya Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) di Situbondo. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. **5**(1), 1-10. 10.20473/jipk.v5i1.11414

Evensen, Ø., & Leong, J. A. C. (2013). DNA vaccines against viral diseases of farmed fish. *Fish & shellfish immunology*, **35**(6), 1751-1758. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.10.021>

Fangidae, M., Saloso, Y., & Soewarlan, C. (2018). Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Delima (*Punica Granatum* L.) dalam Pengobatan Ikan Kerapu Cantang (*Epinephelus* Sp.) yang Terserang *Vibrio alginolyticus*. *Jurnal Aquatik*, **1**(1), 34-42.

Firdaus-Nawi, M., Yusoff, S. M., Yusof, H., Abdullah, S. Z., & Zamri-Saad, M. (2013). Efficacy of feed-based adjuvant vaccine against *S treptococcus agalactiae* in *O reochromis* spp. in M alaysia. *Aquaculture Research*, **45**(1), 87-96.

Fitriatin, E., & A. Manan. (2015). Pemeriksaan *Viral Nervous Necrosis* (VNN) Pada Ikan dengan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, **7**(2), 149-152. DOI: 10.20473/jipk.v7i2.11198

Fretes, H. D., Susanto, A. B., Prasetyo, B., & Limantara, L. (2012). Karotenoid Dari Makroalgae dan Mikroalgae: Potensi Kesehatan Aplikasi dan Bioteknologi. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, **23**(2), 221-228. <https://doi.org/10.6066/jtip.2012.23.2.221>

Gille, A, Trautmann, A, Posten, C, & Briviba, K. (2016), Bioaccessibility Of Carotenoids From *Chlorella vulgaris* And *Chlamydomonas Reinhardtii*. *International Journal Of Food Sciences And Nutrition* **67**: 507–513.

Gudding, R., & Goodrich, T. (2014). The History of Fish Vaccination. *Fish & Shellfish Immunology*. **35**(6): 1-11. [10.1002/9781118806913.ch1](https://doi.org/10.1002/9781118806913.ch1)

Haddad-Boubaker, S., Bigarré, L., Bouzgarou, N., Megdich, A., Baud, M., Cabon, J., & Chéhida, N. B. (2013). Molecular epidemiology of betanodaviruses



- isolated from sea bass and sea bream cultured along the Tunisian coasts. *Virus genes*, **46**(3), 412-422. DOI: 10.1007/s11262-012-0869-8
- Hardi, E. H. (2015). *Parasit Biota Akuatik*. Mulawarman University Press.
- Hazreen-Nita, M., Azila, A., Mukai, Y., Firdaus-Nawi, M., & Nur-Nazifah, M. (2019). A review of betanodavirus vaccination as preventive strategy to *Viral Nervous Necrosis* (VNN) disease in grouper. *Aquaculture International*, **27**(5), 1565-1577. <https://doi.org/10.1007/s10499-019-00410-5>
- Heegaard, P. M., Dedieu, L., Johnson, N., Le Potier, M. F., Mockey, M., Mutinelli, F., ... & Sørensen, N. S. (2011). *Adjuvants* and delivery systems in veterinary vaccinology: current state and future developments. *Archives of virology*, **156**(2), 183-202. <https://doi.org/10.1007/s00705-010-0863-1>
- Hsu, C. Y., Chao, P. Y., Hu, S. P., & Yang, C. M. (2013). The Antioxidant And Free Radical Scavenging Activities of Chlorophylls and Pheophytins. <http://dx.doi.org/10.4236/fns.2013.48A001>
- Ibrahim, I. A., & Elbaily, Z. I. (2020). A review: Importance of *Chlorella* and Different Applications. *Alexandria Journal for Veterinary Sciences*, **65**(1), 16-34. <https://doi.org/10.5455/ajvs.94847>
- Ibrahim, F., Agus, T. R., & Sari, N. W. W. (2021). Identifikasi Metode Pengembangan Sistem Informasi di Indonesia: A *Systematic Literature Review*. *METIK JURNAL*, **5**(1), 47-54. 10.47002/metik.v5i1.215
- Ismi S., Sutarmat T., N. A. Giri, Rimmer, M. A., Knuckey R. M. J., Berding, A. C., & Sugama, K. (2013). *Pengelolaan Pendederan Ikan Kerapu: Suatu Panduan Praktik Terbaru*. Canberra. Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR).
- Ismi, S. (2020). Beberapa Macam Cacat Tubuh yang Terjadi pada Benih Ikan Kerapu Cantang Hasil Hatchery. *JFMR (Journal of Fisheries and Marine Research)*, **4**(1), 94-101. <https://doi.org/10.21776/ub.ifmr.2020.004.01.14>
- Iswanto, B., Suprpto, R., Marnis, H., & Imron, I. (2015). Karakteristik Morfologis Dan Genetis Ikan Lele Afrika (*Clarias gariepinus* Burchell, 1822) Strain Mutiara. *Jurnal Riset Akuakultur*, **10**(3), 325-334.
- Jaelani, L. M., Kartikasari, F. & Winarso, G.. (2016). Analisis Kualitas Air Laut untuk Penentuan Lokasi Budidaya Kerapu Bebek Menggunakan Citra Satelit Landsat-8 (Studi Kasus: Teluk Lampung, Lampung). *GEOID*, **12**(2), 100-110 <https://doi.org/10.12962/23373539.v5i2.17206>
- Ji, J., Torrealba, D., Ruyra, A., & Roher, N. (2015). Nanodelivery systems as new tools for imunostimulant or vaccine administration: targeting the fish immune system. *Biology*, **4**(4), 664-696.



Junirahma, N. S., & Yanuhar, U. (2020). Immune Response of VNN (*Viral Nervous Necrosis*) Infected Grouper Utilizing *Chlorella vulgaris* Extract as an Anti-Virus Candidate, In Journal of Physics: Conference Series, 1665(1), 012008. IOP Publishing. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1665/1/012008>

Khani, M., Soltani, M., Mehrjan, M. S., Foroudi, F., & Ghaeni, M. (2017). The Effect Of *Chlorella vulgaris* (Chlorophyta, Volvocales) Microalga On Some Hematological And Immune System Parameters Of Koi Carp (*Cyprinus carpio*). *Iranian Journal of Ichthyology*, 4(1), 62-68.

Khumaidi, A., Maftuch, M., & Yanuhar, U. (2015). Immunohistochemistry of gill and brain infected by *Viral Nervous Necrosis* (VNN) in Humpback grouper *Cromileptes altivelis* correlated with beta-actin expression. *Journal of Life Science and Biomedicine*, 5, 127-131.

Khumaidi, A. (2016). Marine Microalgae *Nannochloropsis oculata* Anti Virusas An Alternative Viral Nervous Necrotic (VNN) on Humpack Grouper (*Cromileptes altivelis*). *Samakia: Jurnal Ilmu Perikanan*, 7(1), 45-50.

Khumaidi, A., Fadjar, M., Iranawati, F., Kilawati, Y., & Yanuhar, U. (2019). Mass mortality associated with *Viral Nervous Necrosis* of hybrid grouper (*Epinephelus* sp.) cultured in city of grouper. In *AIP Conference Proceedings*. 2120(1), 1-8. <https://doi.org/10.1063/1.5115724>

Kismiyati, K., Kusdarwati, R., & Ulkhaq, M. F. (2012). Studi Identifikasi dan Prevalensi Endoparasit pada Saluran Pencernaan Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) di Keramba Jaring Apung Unit Pengelola Budidaya Laut Situbondo, Jawa Timur, *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 4(1), 93-102. <https://doi.org/10.20473/jipk.v4i1.11591>

Kulkarni, S., & Nikolov, Z. (2018). Process For Selective Extraction Of Pigments And Functional Proteins From *Chlorella vulgaris*. *Algal Research*, 35, 185–193. Doi:[10.1016/j.algal.2018.08.024](https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.08.024)

Kuo, H. P., Goh, L. L., Lu, M. W., & Kong, Z. L. (2016). Delivery of grouper Interferon by chitosan-modified poly (lactic-co-glycolic acid) nanoparticles to protect nervous necrosis virus infection. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 16(7), 7521-7529. 10.1166/jnn.2016.12348

Kusumawati, I., Nasution, M. A., & Diana, R. (2017). Analisis Kesesuaian Perairan Teluk Lhok Rigah sebagai Lokasi Budidaya Ikan Kerapu Bebek (*Cromileptes altivelis*) dengan Sistem Keramba Jaring Apung (KJA). *Jurnal Perikanan Tropis*, 4(1), 33-46.

Kwon, K.-C., Lamb, A., Fox, D., & Porphy Jegathese, S. J. (2019). An evaluation of microalgae as a recombinant protein oral delivery platform for fish using green fluorescent protein (GFP). *Fish & Shellfish Immunology*. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.01.038>

Lamanasa, A. R., Hasim, & R. Tuiyo. (2014). Pengaruh Frekuensi Pemberian Pakan Otohime terhadap Pertumbuhan dan Kelangsungan Hidup Benih Ikan Kerapu Bebek di Balai Pengembangan Benih Ikan Laut dan Payau



- (BPBILP) Lamu Kabupaten Boalemo. Nikè: *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, **II**(1), 4-8.
- Lei, Z., & Langrish, T. (2021). A Review of the Extraction and Closed-Loop Spray Drying-Assisted Micro-Encapsulation of Algal Lutein for Functional Food Delivery. *Processes*, **9**(7), 1143. <https://doi.org/10.3390/pr9071143>
- Leong, J. C. (2008). *Fish Viruses*. Encyclopedia of virology, 227.
- Lestari, A. T., & Sudaryatma, P. E. (2014). Studi Imunositokimia Darah dan Suspensi Organ Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) yang Diinfeksi Virus Isolat Lapang Penyebab Viral Nervous Necrosis. *Jurnal Sain Veteriner*, **32**(1), 85-92.
- Li, T., Teng, D., Mao, R., Hao, Y., Wang, X., & Wang, J. (2019). Recent Progress in Preparation and Agricultural Application of Microcapsules. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, **107**(10), 2371-2385. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.36739>
- Li, J., Tang, L., Li, S., Li, G., & Mo, Z. (2020). The Efficacy And Side-Effects Of Oil-Based Adjuvants Emulsified *Vibrio anguillarum* Bivalent Inactivated Vaccine in Turbot (*Scophthalmus maximus*) Under Production Mode. *Aquaculture*, **524**, 735259. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735259>
- Lim KC, Yusoff F, Mohamed S, & Mohd SK (2018) Astaxanthin As Feed Supplement In Aquatic Animals. *Reviews In Aquaculture*, **10**: 738–773. <https://doi.org/10.1111/Raq.12200>
- Lin, K., Zhu, Z., Ge, H., Zheng, L., Huang, Z., & Wu, S. (2016). Immunity To Nervous Necrosis Virus Infections Of Orange-Spotted Grouper (*Epinephelus coioides*) By Vaccination With Virus-Like Particles. *Fish & Shellfish Immunology*, **56**, 136-143. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsi.2016.06.056>
- Lin, C. F., Jiang, H. K., Chen, N. C., Wang, T. Y., & Chen, T. Y. (2018). Novel subunit vaccine with linear array epitope protect giant grouper against nervous necrosis virus infection. *Fish & Shellfish Immunology*, **74**, 551-558. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.01.029>
- Loekman, N.A., W.H. Satyantini & Mukti, A.T. (2018). Penambahan Asam Amino Taurin pada Pakan Buatan Terhadap Peningkatan Pertumbuhan dan Sintasan Benih Ikan Kerapu Cantik (*Epinephelus fuscoguttatus* x *Epinephelus microdon*). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. **10**(2), 112-118
- Lutfiyah, L., & Budi, D. S. (2019). Fluktuasi Asimetri Ikan Kerapu Hybrid Cantang (*Epinephelus fuscoguttatus* x *Epinephelus lanceolatus*) yang Berasal dari Situbondo dan Bali. *Journal of Aquaculture Science*, **4**(1), 21-26. <https://doi.org/10.31093/joas.v4i1.65>



- Ma, G. (2014). Microencapsulation of protein drugs for drug delivery: strategy, preparation, and applications. *Journal of Controlled Release*, **193**, 324-340.
- Ma, K., Bao, Q., Wu, Y., Chen, S., Zhao, S., Wu, H., & Fan, J. (2020). Evaluation of Microalgae as Immunostimulants and Recombinant Vaccines for Diseases Prevention and Control in Aquaculture. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, **8**, 1331. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.590431>
- Made, S., Fakhriyah, S. & Darawelalangi, A. (2017). Analisis Kontribusi Ekspor Ikan Kerapu (*Ephinephelus* Spp.) Terhadap Pendapatan Asli Daerah (PAD) Provinsi Sulawesi Selatan. *ECSoFiM: Economic and Social of Fisheries and Marine Journal*, **4**(2), 126 -134, <http://dx.doi.org/10.21776/ub.ecsofim.2017.004.02.02>
- Marzali, A. (2016). Menulis kajian literatur. *Jurnal Etnografi Indonesia*, **1**(2), 27-36.
- Masitha, A., Yanuhar, U., & Hertika, A. M. S. (2019). N-vivo Test of *Chlorella vulgaris* Extract As Heat Shock Proteins Induction of Cantang Grouper (*Ephinephelus Fuscoguttatus-Lanceolatus*) Infected by Viral Nervous Necrosis. *JFMR (Journal Of Fisheries And Marine Research)*, **3**(1), 22-31.
- Melianawati, R., Pratiwi, R., & Astuti, N. W. W. (2017). Pengaruh Perbedaan Waktu Awal Pemberian Pakan Buatan terhadap Pertumbuhan dan Aktivitas Enzim Pencernaan Larva Ikan Kerapu Bebek *Cromileptes altivelis* (Valenciennes 1828). *Jurnal Biologi Indonesia*, **8**(2), 329-342.
- Mohamed, A. G., Abo-El-Khair, B. E., & Shalaby, S. M. (2013). Quality Of Novel Healthy Processed Cheese Analogue Enhanced With Marine Microalgae *Chlorella vulgaris* Biomass. *World Applied Sciences Journal*, **23**(7), 914-925. DOI: 10.5829/Idosi.Wasj.2013.23.07.13122
- Mudiarti, L., & Zainuddin M.. (2016). Respon Pertumbuhan Benih Kerapu Bebek (*Cromileptes altivelis*) pada Perlakuan Perbedaan Salinitas Media dan Pemberian Biomas *Artemia* Sp. Dewasa. *Saintek Perikanan*, **12**(1), 7-11. <https://doi.org/10.14710/ijfst.12.1.7-11>
- Mufidah, A., Agustono, A., Sudarno, S., & Nindarwi, D. D. (2018). Teknik Kultur *Chlorella* sp. Skala Laboratorium dan Intermediet di Balai Perikanan Budidaya Air Payau (BPBAP) Situbondo Jawa Timur. *Journal of Aquaculture and Fish Health*, **7**(2), 50-56. <https://doi.org/10.20473/jafh.v7i2.11246>
- Ngabito, M., & Auliyah, N. (2018). Kesesuaian Lahan Budidaya Ikan Kerapu (*Epinephelus* Sp.) Sistem Keramba Jaring Apung di Kecamatan Monano. *Jurnal Galung Tropika*, **7**(3), 204-219. <https://doi.org/10.31850/jgt.v7i3.377>
- Novianti, T., Zainuri, M., & Widowati, I. (2019). Aktivitas Antioksidan dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Kasar Mikroalga *Chlorella vulgaris* yang Dikultivasi Berdasarkan Sumber Cahaya yang Berbeda.



- Barakuda 45: *Jurnal Ilmu Perikanan dan Kelautan*, 1(2), 72-87.  
<https://doi.org/10.47685/barakuda45.v1i2.44>
- Novita, Setyowati, D. N., & Astriana, B. H. (2020). Profil Darah Ikan Kakap Putih yang Diinfeksi Bakteri *Vibrio* Sp. Dengan Pemberian Lidah Buaya (*Aloe Vera*). *Jurnal Perikanan*, 10(1), 55-69.  
<https://doi.org/10.29303/jp.v10i1.175>
- Novriadi, R., Agustatik, S., & D. O. N. Tanjung. (2015). Identifikasi Keberadaan Nervous Necrosis Virus dan Iridovirus pada Budidaya Ikan Laut di Wilayah Kerja Balai Perikanan Budidaya Laut Batam. *Omni-Akuatika*, XIV(20), 54-62.
- Nuryati, S., Khodijah, S., Alimuddin, A., & Setiawati, M. (2015). Efektivitas penggunaan vaksin DNA dalam pakan pada ikan mas yang diinfeksi koi herpesvirus. *Jurnal Kedokteran Hewan-Indonesian*, 9(1): 33-37.
- Nurlita, W., Pandit, I. G. S., & Darmadi, N. M. (2020). Detection of The Existence of Viral Nervous Necrosis on Fry Cantang Grouper at Rain Season. *SEAS (Sustainable Environment Agricultural Science)*, 4(1), 46-52.  
<https://doi.org/10.22225/seas.4.1.1687.46-52>
- Ode, I. (2013). Kajian Sistem Imunitas untuk Pengendalian Penyakit pada Ikan dan Udang, *Jurnal Ilmiah agribisnis dan Perikanan*, 6(2). 41-43.
- Oh, M. J., Takami, I., Nishizawa, T., Kim, W. S., Kim, C. S., Kim, S. R., & Park, M. A. (2012). Field tests of Poly (I: C) immunization with nervous necrosis virus (NNV) in sevenband grouper, *Epinephelus septemfasciatus* (Thunberg). *Journal of Fish Diseases*, 35(3), 187-191.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2011.01334.x>
- Panigoro, C. & Juliana. (2017). Kesesuaian Lahan Budidaya Ikan Kerapu (*Epinephelus* Ssp) Berdasarkan Parameter Fisik, Kimia dan Biologi di Perairan Langge Kabupaten Gorontalo Utara. In *Prosiding Seminar Nasional Kemaritiman dan Sumber Daya Pulau-Pulau Kecil*, 1(1), 1-6.
- Prabakaran, G., Moovendhan, M., Arumugam, A., Matharasi, A., Dineshkumar, R., & Sampathkumar, P. (2018). Quantitative Analysis of Phytochemical Profile In Marine Microalgae *Chlorella vulgaris*. *Int J Pharm Biol Sci*, 8(2), 562-565.
- Prakosa, D. G., Kusuma, W. E., & Pramujo, S. S. (2013). Pembenihan Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) di Instalasi Pembenihan Balai Budidaya Air Payau (BBAP) Situbondo, Jawa Timur. *Samakia: Jurnal Ilmu Perikanan*, 4(2), 67-75.
- Prayogo I. dan Haidayat F., 2014. Pembenihan ikan kerapu tikus (*Cromileptes altivelis*) Di Balai Perikanan Budidaya Air Payau (BPBAP) Situbondo. *JSAPI*. 5(2): 65 – 7
- Putra, W. K. A., Suhaili, S., & Yulianto, T. (2014). Efisiensi dan Rasio Konversi Pakan Ikan dengan berbagai Dosis Papain pada Kerapu Cantang (*E.*



- fuscoguttatus*>< *E. lanceolatus*). *Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada*, **22**(1), 19-25. <https://doi.org/10.22146/jfs.55524>
- Qiu, S., Khan, S. I., Wang, M., Zhao, J., Ren, S., Khan, I. A., ... & Li, X. C. (2020). Chemometrics-Assisted Identification Of Anti-Inflammatory Compounds From The Green Alga *Klebsormidium Flaccidum* Var. *Zivo*. *Molecules*, **25**(5), 1048. Doi:10.3390/Molecules25051048
- Rahayu, T., Syafril, S., Wekke, I. S., & Erlinda, R. (2019). Teknik Menulis Review Literatur Dalam Sebuah Artikel Ilmiah.
- Rahmaningsih, S & A.I. Ari. (2013). Pakan dan Pertumbuhan Ikan Kerapu Cantang (*Epinephellus fuscoguttatus lanceolatus*). *Ekologia*. **13**(2), 25-30.
- Rahmawanti, A., Setyowati, D. N. A., & Mukhlis, A. (2021). Histopathological of Brain, Eye, Liver, Spleen Organs of Grouper Suspected VNN in Penyambuan Village, North Lombok. *Jurnal Biologi Tropis*, **21**(1), 140-148. <https://doi.org/10.29303/jbt.v21i1.2439>
- Ramaraj, R., Unpaprom, Y., & Dussadee, N. (2016). Cultivation of green microalga, *Chlorella vulgaris* for biogas purification. *IJNTR*, **3**, 117-122.
- Ramos-Espinoza, F. C., Cueva-Quiroz, V. A., Yunis-Aguinaga, J., Alvarez-Rubio, N. C., de Mello, N. P., & de Moraes, J. R. E. (2020). Efficacy of two adjuvants administrated with a novel hydrogen peroxide-inactivated vaccine against *Streptococcus agalactiae* in Nile tilapia fingerlings. *Fish & Shellfish Immunology*, **105**, 350-358.
- Reimann, R., Zeng, B., Jakopec, M., Burdukiewicz, M., Petrick, I., Schierack, P., & Rödiger, S. (2020). Classification of dead and living microalgae *Chlorella vulgaris* by bioimage informatics and machine learning. *Algal Research*, **48**, 101908. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101908>
- Rochmad, A. N. (2020). Teknik Pembesaran Ikan Kerapu Hibrida Cantang (*Epinephelus fuscoguttatus* x *Epinephelus lanceolatus*) pada Karamba Jaring Apung. *Jurnal Biosains Pascasarjana*, **22**(1), 29-36.
- Romero, N., Visentini, F. F., Márquez V. E., Santiago L. G., Castro G. R., & Gagneten A. M. (2020). Physiological and Morphological Responses of Green Microalgae *Chlorella vulgaris* to Silver Nanoparticles. *Environmental Research*, 109857. doi:10.1016/j.envres.2020.109857
- Ru, I. T. K., Sung, Y. Y., Jusoh, M., Wahid, M. E. A., & Nagappan, T. (2020). *Chlorella vulgaris*: A Perspective on Its Potential for Combining High Biomass with High Value Bioproducts. *Applied Phycology*, **1**(1), 2-11. <https://doi.org/10.1080/26388081.2020.1715256>
- Saberi, A., Zorriehzahra, M. J., Emadi, H., Kakoolaki, S., & Fatemi, S. M. R. (2017). Effects of *Chlorella vulgaris* on blood and immunological parameters of Caspian Sea salmon (*Salmo trutta caspius*) fry exposed to Viral Nervous Necrosis (VNN) virus. 510-494), **2**(16), مجله علوم شیلاتی ایران.



Safi, C., Zebib, B., Merah, O., Pontalier, P. Y., & Vaca-Garcia, C. (2014). Morphology, Composition, Production, Processing And Applications Of *Chlorella vulgaris*: A Review. Renewable And Sustainable Energy Reviews, 35, 265-278. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2014.04.007>

Safi, C., Frances, C., Ursu, A. V., Laroche, C., Pouzet, C., Vaca-Garcia, C., & Pontalier, P. Y. (2015). Understanding the effect of cell disruption methods on the diffusion of *Chlorella vulgaris* proteins and pigments in the aqueous phase. *Algal research*, 8, 61-68. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.01.002>

Safi, C., Zebib, B., Merah, O., Pontalier, P. Y., & Vaca-Garcia, C. (2014). Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 35, 265-278. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.04.007>

Safia, W., & Mahyudin. (2016). Studi Pemberian Pakan pada Kedalaman yang Berbeda terhadap Perubahan Morfologi Mulut Ikan Kerapu Bebek (*Cromileptes altivelis*). *AquaMarine (Jurnal FPIK UNIDAYAN)*, 4(1), 22-27.

Samsisko, Widi, R. L., Suprpto, H. & Sigit, S. (2014). Respon Hematologis Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) pada Suhu Media Pemeliharaan Yang Berbeda. *Journal Aquaculture And Fish Health*. 3(1):0-0.

Sanina, N. (2019). Vaccine adjuvants derived from marine organisms. *Biomolecules*, 9(8), 340. doi:10.3390/biom9080340

Santhosh, S., Dhandapani, R., & Hemalatha, N. (2016). Bioactive Compounds From Microalgae And Its Different Applications-A Review. *Advances In Applied Science Research*, 7(4), 153-158.

Sari, M., & Asmendri, A. (2020). Penelitian Kepustakaan (Library Research) dalam Penelitian Pendidikan IPA. *Natural Science: Jurnal Penelitian Bidang IPA Dan Pendidikan IPA*, 6(1), 41-53.

Sembiring, S.B.M., S.W. Gigih, M. Ketut, W. Zeny, & Haryanti (2018). Prevalensi Infeksi *Viral Nervous Necrosis*(VNN) dan Iridovirus pada Hatcheri dan Budidaya Ikan Laut. *Media Akuakultur*. 13 (2): 83- 90.

Septinawati, A. & W. Tjahjaningsih. (2010). Manajemen Pembesaran Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) di Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara Jawa Tengah. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 2(1), 67-76. <https://doi.org/10.20473/jipk.v2i1.11668>

Setiawati, K. M., Mahardika, K., Alit, A. K., Kusumawati, D., & Mastuti, I. Pertumbuhan dan Profil Darah Benih Ikan Kerapu Sunu *Plectropomus leopardus* Dipelihara pada Salinitas Berbeda. 9(2): 557-568. D. Ol: <http://dx.doi.org/10.29244/jitkt.v9i2.19290>

Silva, P. T. D., Fries, L. L. M., Menezes, C. R. D., Holkem, A. T., Schwan, C. L., Wigmann, E. F., ... & Silva, C. D. B. D. (2014). Microencapsulation: concepts, mechanisms, methods and some applications in food



technology. *Ciência Rural*, **44**(7), 1304-1311.  
<https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20130971>

Sivakumar, S. M., Safhi, M. M., Kannadasan, M., & Sukumaran, N. (2011). Vaccine adjuvants—current status and prospects on controlled release adjuvancity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, **19**(4), 197-206.

Soemarjati, W., A.B. Muslim, R. Susiana dan C. Saparinto. (2015). *Bisnis dan Budi Daya Kerapu*. Penebar Swadaya : Jakarta.

Soontornchaiboon, W., Joo, S. S., & Kim, S. M. (2012). Anti-Inflammatory Effects of Violaxanthin Isolated From Microalga *Chlorella Ellipsoidea* In RAW 264.7 Macrophages. *Biological And Pharmaceutical Bulletin*, **35**(7), 1137-1144.

Soyi, D. S., & Kusumawati, A. (2016). Purifikasi Protein Rekombinan dari Klon Gen Gag-Ca Sebagai Kandidat Vaksin Virus Penyakit Jembrana. *Sains & Teknologi*, **9**(2), 74-95.

Subyakto, S & Cahyaningsih, S. 2003. *Pembenihan Kerapu Skala Rumah Tangga*. Agromedia.

Sudaryatma, P. E., & Lestari, A. T. (2014). Imunohistokimia Patogenitas *Viral Nervous Necrosis* Isolat Lapang Bali yang Diinfeksi pada Kerapu Macan Budidaya. *Acta VETERINARIA Indonesiana*, **2**(2), 54-61.  
<https://doi.org/10.29244/avi.2.2.54-61>

Sudaryatma, P. E., A.T. Lestari, N. L. Sunarsih, K. S. Widiarti, S. N. Hidayah, & D. Srinoto. (2012). Imunositokimia Streptavidin Biotin: Deteksi Dini *Viral Nervous Necrosis* Virus pada Lendir Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*). *Jurnal Sain Veteriner*, **30**(1), 99-110

Suhaili, W. K. A. P., & Yulianto, T. Efisiensi Pakan dan Pertumbuhan Ikan Kerapu Cantang (*Epinephelus fuscoguttatus* x *Epinephelus lanceolatus*) dengan Pemberian Dosis Enzim Papain Berbeda. DOI:10.31629/intek.v4i2.2397

Suhara, N. A., Mauludiyah, E. N., Suhara, N. A., & Maulana, I. T. (2020). Isolasi Fraksi Senyawa Aktif Antibakteri *Staphylococcus epidermidis* Dari *Chlorella vulgaris* B Sebagai Bahan Aktif Antiseptik. *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*, **3**(1), 18-25. DOI:10.29313/Jiff.V3i1.4889

Sun, Y., Liu, C. S., & Sun, L. (2011). A multivalent killed whole-cell vaccine induces effective protection against *Edwardsiella tarda* and *Vibrio anguillarum*. *Fish & shellfish immunology*, **31**(4), 595-599. 10.1016/j.fsi.2011.06.025

Sunaryo, S., & Marmi, M. (2018). Ketahanan Hidup Benih Ikan Kerapu Bebek (*Cromileptes altivelis*) pada Habitat Air Tawar. *Proceeding of Biology Education*, **2**(1), 36-41. <https://doi.org/10.21009/pbe.2-1.5>

Supriyadi & Rujita, A. S. (2013). Karakteristik Mikrokapsul Minyak Atsiri Lengkuas dengan Maltodekstrin Sebagai Enkapsulan, *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, **24**(2), 201-201. <https://doi.org/10.6066/itip.2013.24.2.201>



Sutanti, S., Megawati, N., Pranoto, S. H., & Aliah, R. S. Produksi dan Aplikasi Vaksin DNA *Streptococcus iniae* untuk Meningkatkan Imunitas Nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada*, 18(2), 61-66.

<https://doi.org/10.22146/jfs.13049>

Sutarmat, T., & Yudha, H. T. (2016). Analisis keragaan pertumbuhan benih kerapu hibrida hasil hibridisasi kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) dengan kerapu kertang (*Epinephelus lanceolatus*) dan kerapu batik (*Epinephelus microdon*). *Jurnal Riset Akuakultur*, 8(3), 363-372.

<https://doi.org/10.15578/jra.8.3.2013.363-372>

Syed, S., Arasu, A., & Ponnuswamy, I. (2015). The Uses Of *Chlorella vulgaris* As Antimicrobial Agent And As A Diet: The Presence Of Bio-Active Compounds Which Caters The Vitamins, Minerals In General. *International Journal Of Bio-Science And Bio-Technology*, 7(1), 185-190.

[Http://Dx.Doi.Org/10.14257/ijbsbt.2015.7.1.19](http://Dx.Doi.Org/10.14257/ijbsbt.2015.7.1.19)

Tafalla, C., J. Børgwald, R. A. Dalmo, H. M. Munang'andu, and Ø. Evensen. (2014). *Adjuvants in Fish Vaccines*. Fish Vaccination, First Edition. R. Gudding, A. Lillehaug, and Ø. Evensen (Eds). (pp: 68-84).

Triandini, E., Jayanatha, S., Indrawan, A., Putra, G. W., & Iswara, B. (2019). Metode Systematic Literature Review untuk Identifikasi Platform dan Metode Pengembangan Sistem Informasi di Indonesia. *Indonesian Journal of Information Systems*, 1(2), 63-77.

Ursu, A. V., Marcati, A., Sayd, T., Sante-Lhoutellier, V., Djelveh, G., & Michaud, P. (2014). Extraction, Fractionation And Functional Properties Of Proteins From The Microalgae *Chlorella vulgaris*. *Bioresource Technology*, 157, 134-139. <http://Dx.Doi.Org/10.1016/J.Biortech.2014.01.071>

Usmar, U., Arfiansyah, R., & Nainu, F. (2017). Sensor asam nukleat sebagai aktivator imunitas intrinsik terhadap patogen intraseluler. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy)(e-Journal)*, 3(2), 174-190. 10.22487/j24428744.2017.v3.i2.8922

Valentino, G., Damai, A. A., & Yulianto, H. (2018). Analisis Kesesuaian Perairan Untuk Budidaya Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus Fuscoguttatu*) Di Perairan Pulau Tegal Kecamatan Teluk Pandan Kabupaten Pesawaran. *e-Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*, 6(2), 705-712. <http://dx.doi.org/10.23960/jrtbp.v6i2.p705-712>

Valero, Y., Awad, E., Buonocore, F., Arizcun, M., Esteban, M. Á., Meseguer, J., ... & Cuesta, A. (2016). An oral chitosan DNA vaccine against nodavirus improves transcription of cell-mediated cytotoxicity and interferon genes in the European sea bass juveniles gut and survival upon infection. *Developmental & Comparative Immunology*, 65, 64-72. <http://dx.doi.org/10.1016/j.dci.2016.06.021>

Vieira, M. V., Pastrana, L. M., & Fuciños, P. (2020). Microalgae Encapsulation Systems for Food, Pharmaceutical and Cosmetics Applications. *Marine drugs*, 18(12), 644.



Wati, R. R., Sriwidodo, S., & Chaerunisa, A. Y. (2020). Review teknik mikroenkapsulasi pada ekstrak Mangosteen. JCPSP (Journal of Current Pharmaceutical Sciences), 3(2), 241-248.

Yaakob Z, Ali E, Zainal A, Mohamad M, & Takriff M.S., (2014), An Overview: Biomolecules From Microalgae for Animal Feed and Aquaculture. Journal Of Biological Research-Thessaloniki 21: 1–10.

Yamamoto, M., Fujishita, M., & Hirata, A. (2014). Regeneration and Maturation Of Daughter Cell Walls In The Autospore-Forming Green Alga *Chlorella vulgaris* (Chlorophyta, Trebouxiophyceae). Journal Of Plant Research, 117, 257–264.

Yanuhar, U. (2011). Respon Immun Sel Interleukin-4 (IL-4) pada Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) yang Dipapar Protein Immunogenik Vibrio Harveyi. Jurnal Kelautan: Indonesian Journal of Marine Science and Technology, 4(2), 126-134.

Yanuhar, U. (2015). Pengaruh Fraksi Pigmen-Protein *Nannochloropsis Oculata* terhadap TNF $\alpha$  dan IL-6 yang Bertindak Sebagai Anti Inflamasi Terhadap Infeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN). Procedia Kimia, 14, 437-443. doi: 10.1016/j.proche.2015.03.059

Yanuhar, U., & Khumaidi, A. (2017). The application of pigment-protein fraction from *Nannochloropsis oculata* on  $\beta$ -actin response of *Cromileptes altivelis* infected with *Viral Nervous Necrosis*. Jurnal Akuakultur Indonesia, 16(1), 22-32.

Yanuhar, U., Arfiati, D., Musa, M., Junirahma, N. S., & Caesar, N. R. (2020, October). The Status of VNN (*Viral Nervous Necrosis*)-Infected Grouper Fish Tissue with *Chlorella vulgaris* Extract as Anti-Virus Candidate. In Journal of Physics: Conference Series (Vol. 1665, No. 1, p. 012036). IOP Publishing. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1665/1/012036>

Yanuhar, U., Musa, M., Arfiati, D., Sholihah, Q., Khumaid, A., & Caesar, NR (2020). Pengaruh Fraksi Protein Pigmen dari *Chlorella vulgaris* Terisolasi di Indonesia Terhadap Respon -Actin dan MHC-1 Terhadap Kerapu Bungkok yang Terinfeksi Virus. Tinjauan Sistematis di Farmasi, 11 (7), 352-362.

Yuwanita, R., Buwono, N. R., & Putra, H. F. E. (2018). Pengaruh Dunaliella Salina Terhadap Polimorfonuklear Leukosit Ikan Kerapu Cantang (*Epinephelus fuscoguttatus* x *Epinephelus lanceolatus*) Yang Diinfeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN)[Effect of Dunaliella Salina on Polymorphonuclear Leukocytes of Cantang Grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* x *Epinephelus lanceolatus*) Infected by *Viral Nervous Necrosis* (VNN)]. Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan, 10(2), 124-130.

Zhang, Z., Yu, A., Lan, J., Zhang, H., Hu, M., Cheng, J., ... & Wei, S. (2017). GapA, a potential vaccine candidate antigen against *Streptococcus agalactiae* in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Fish & shellfish immunology, 63, 255-260. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsi.2017.02.019>



Zorrienzahra, M. J., Hassantabar, F., Ziarati, M., Yazdanpanah Goharrizi, L., Seidgar, M., Radkhah, K., & Sheikh Asadi, M. (2019). Impact of *Viral Nervous Necrosis* (VNN) Disease as a New Threat to Global Fisheries and Aquaculture Development, a Review. *Iranian Journal of Virology*, **13**(2), 42-57.

Zullaikah, S., Jessinia, M. C. P., Yasmin, M., Rachimoellah, M., & Wu, D. W. (2019). Lipids extraction from wet and unbroken microalgae *Chlorella vulgaris* using subcritical water. *In Materials Science Forum*. **964**: 103-108). Trans Tech Publications Ltd.  
<https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/MSF.964.103>



## LAMPIRAN

Lampiran 1. Outline pada Laporan Kajian Literatur

**Judul:** Kajian Literatur: Mikroenkapsulasi *Recombinant Protein* Mikroalga *Chlorella vulgaris* untuk *Treatment* Ikan Kerapu Cantang (*Epinephelus fuscoguttatus-lanceolatus*) yang Terinfeksi *Viral Nervous Necrosis*

### 1. Latar Belakang

- Penyebab patogen menginfeksi dan penyebarannya
- Penularan virus pada ikan kerapu cangang
- Dampak kerugian yang mengharuskan ada penanganan
- Penanganan ikan kerapu yang terinfeksi, pemberian obat atau vaksin
- Penanganan dengan mikroalga sebagai imunostimulan
- Penggunaan teknik pemberian imunostimulan

### 2. Tujuan Kajian Literatur

Untuk menjelaskan mikroenkapsulasi *recombinant protein* mikroalga *Chlorella vulgaris* dengan *adjuvant* CFA (*Complete Freund's Adjuvant*)/IFA (*Incomplete Freund's Adjuvant*) dan Kitosan untuk Ikan Kerapu Cantang (*Epinephelus fuscoguttatus-lanceolatus*) yang terinfeksi *Viral Nervous Necrosis*

### 3. Metode Kajian Literatur

- Metode yang digunakan dalam penulisan kajian literatur adalah metode *systematic literature review*
- Kajian literature dilakukan dengan pengumpulan data sekunder dari hasil penelitian tahun 2015-2021 baik internasional maupun nasional
- Penulisan isi kajian literatur dengan membuat ringkasan dan poin-poin penting dari setiap sumber pustaka

### 4. Hasil Kajian Literatur



- Penjelasan terkait kondisi biologis ikan kerapu cantang seperti klasifikasi, morfologi, habitat, kebiasaan makan, parameter kualitas air yang mendukung pertumbuhannya, sistem ketahanan tubuh terhadap serangan penyakit, serta gejala klinis ketika terinfeksi penyakit.
- Penjelasan terkait klasifikasi dan morfologi VNN, penyebaran VNN, mekanisme vnn menginfeksi ikan, dan Penanganan virus VNN.
- Penjelasan terkait pemanfaatan mikroalga sebagai imunostimulan terhadap ikan yang terinfeksi VNN
- Penjelasan terkait pemberian protein rekombinan dengan adjuvant CFA (*Complete Freund's Adjuvant*)/IFA (*Incomplete Freund's Adjuvant*) dan Kitosan pada mikroenkapsulasi untuk Ikan Kerapu Cantang (*Epinephelus fuscoguttatus-lanceolatus*) yang terinfeksi *Viral Nervous Necrosis*

